



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**ODSTRANĚNÍ SULFONAMIDOVÝCH ANTIBIOTIK S
VYUŽITÍM POKROČILÝCH OXIDAČNÍCH PROCESŮ**

REMOVAL OF SULFONAMIDE ANTIBIOTICS USING ADVANCED OXIDATION PROCESSES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jan Fučík

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Tereza Švestková

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1381/2018
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Jan Fučík**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Tereza Švestková**
Akademický rok: 2018/19

Název bakalářské práce:

Odstranění sulfonamidových antibiotik s využitím pokročilých oxidačních procesů

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracování literární rešerše na problematiku degradace sulfonamidových antibiotik pomocí pokročilých oxidačních procesů.
2. Zvolení vhodné analytické metody pro jejich stanovení.
3. Provést experimenty aplikace plazmatu na modelové vzorky vod s obsahem sulfonamidových antibiotik.
4. Zhodnocení získaných výsledků.

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Jan Fučík
student(ka)

Ing. Tereza Švestková
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Práce se zabývá aktuální problematikou narůstajících koncentrací léčiv a ostatních mikropolutantů ve vodním prostředí, kvůli nedostatečné účinnosti konvenčních metod používaných na čistírnách odpadních vod. Z tohoto důvodu je nutné vyvíjet nové technologické procesy, které by byly schopny účinně odstraňovat tyto polutanty z odpadních vod. Jednou z možností je doplnění těchto konvenčních metod pomocí pokročilých oxidačních procesů (AOP), které by sloužily k terciárnímu dočištění na čistírnách odpadních vod.

V teoretické části bakalářské práce jsou popsány dosavadní poznatky, princip plazmatu a analytických metod. V experimentální části práce je k odstranění sulfonamidových antibiotik (sulfamethoxazolu) využíván výboj plazmatu, jakožto zástupce AOP. V průběhu aplikace plazmatu na modelové vzorky sulfamethoxazolu byly odebírány vzorky. Tyto vzorky byly vyhodnoceny pomocí LC-ESI-MS jakožto vhodné analytické metody. V rámci bakalářské práce byl vyhodnocen vliv prostředí (neutrální, kyselé a zásadité) na účinnost degradace sulfamethoxazolu, ale také byla posouzena vhodnost aplikace plazmatu na degradaci sulfonamidových antibiotik porovnáním s ostatními AOP.

ABSTRACT

This thesis deals with a present problem of increasing concentrations of pharmaceuticals and other micropollutants in aquatic environment, because these micropollutants are not treated sufficiently in conventional wastewater treatment plants. It is necessary to develop new technological processes, that are able to treat these pollutants sufficiently. One of the options is that conventional methods would be complementary with advanced oxidation processes (AOP), which would work as a tertiary cleaning process on wastewater treatment plants.

The actual knowledge, principle of the plasma discharge and principle of analytical methods is described in theoretical part of the thesis. In experimental part of the thesis, the plasma discharge is used for removal of sulfonamide antibiotics (sulfamethoxazole), as the representative of AOP. Samples were taken during the plasma treatment of the model solution of sulfamethoxazole. These samples were analysed by LC-ESI-MS as the appropriate analytical method. An efficiency of degradation of sulfamethoxazole in different solutions (neutral, acidic and alkaline) was evaluated in this bachelor thesis. A suitability of plasma application on degradation of sulfonamide antibiotics was reviewed by comparing with other AOP.

Klíčová slova

sulfonamidová antibiotika, sulfamethoxazol, pokročilé oxidační procesy, plazma v kapalině, degradace polutantů, kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

Keywords

sulfonamide antibiotics, sulfamethoxazole, advanced oxidation processes, plasma in liquid, degradation of pollutants, liquid chromatography, mass spectrometry

FUČÍK, J. *Odstranění sulfonamidových antibiotik s využitím pokročilých oxidačních procesů*. Brno, 2019. 62 s. Bakalářská práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí bakalářské práce Ing. Tereza Švestková

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Chtěl bych poděkovat své vedoucí bakalářské práce, paní Ing. Tereze Švestkové za její odborné rady, čas a vstřícný přístup. Dále bych chtěl poděkovat paní doc. Ing. Zdence Kozákové, Ph.D. za její odborné rady a výpomoc týkající se aplikace plazmatu. Též bych chtěl poděkovat paní Ing. Ludmile Mravcové, Ph.D. za čas a její odborné rady, ale také bych chtěl poděkovat doktorandkám Ing. Pavlíně Landové a Ing. Petře Sukové za jejich vstřícný přístup v laboratoři.

OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Léčiva	8
2.1.1	Farmakokinetické děje v organismu	8
2.1.2	Spotřeba léčiv a sulfonamidových antibiotik	9
2.2	Antibiotika	10
2.2.1	Rozdělení antibiotik	10
2.3	Sulfonamidová antibiotika	11
2.3.1	Rozdělení sulfonamidových antibiotik podle chemické struktury	11
2.3.2	Vybraný analyt ze skupiny sulfonamidových antibiotik	13
2.3.2.1	Sulfamethoxazol	13
2.3.3	Použití sulfonamidových antibiotik	13
2.3.4	Nežádoucí účinky sulfonamidů	14
2.4	Legislativa ČR a léčiva	14
2.5	Cyklus antibiotik v životním prostředí	15
2.5.1	Čistírny odpadních vod	16
2.5.2	Polutanty v odpadních vodách	17
2.6	Pokročilé oxidační procesy	19
2.6.1	Rozdělení AOP procesů podle principu vzniku hydroxylových radikálů	20
2.6.2	Plazma	20
2.6.3	Nízkoteplotní plazma v kapalině	21
2.6.3.1	Procesy iniciované plazmatem v kapalině	22
2.6.3.2	Produkty degradace sulfamethoxazolu plazmatem	23
2.7	Chromatografie	24
2.7.1	Rozdělení chromatografie	24
2.7.2	Kapalinová chromatografie	24
2.7.2.1	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie	25
2.8	Hmotnostní spektrometrie	26
2.8.1	Vakuový systém	26
2.8.2	Vstup vzorku	26
2.8.3	Iontový zdroj	26
2.8.3.1	Elektrosprej	27
2.8.4	Hmotnostní analyzátor	28
2.8.4.1	Iontová past	29
2.8.5	Detektor iontů	30

2.8.5.1	Elektronový násobič	30
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	31
3.1	Použité přístroje a pomůcky	31
3.2	Použitý software pro zpracování a interpretaci dat.....	31
3.3	Použité chemikálie a standard	32
3.3.1	Chemikálie	32
3.3.2	Standard	32
3.3.3	Plyny	32
3.4	Příprava roztoků.....	32
3.4.1	Příprava zásobních roztoků sulfamethoxazolu.....	32
3.4.2	Příprava kalibračních roztoků	33
3.4.3	Příprava modelových roztoků se sulfamethoxazolem.....	33
3.4.3.1	Modelový roztok sulfamethoxazolu s neutrálním pH.....	33
3.4.3.2	Modelový roztok sulfamethoxazolu s kyselým pH	33
3.4.3.3	Modelový roztok sulfamethoxazolu se zásaditým pH	33
3.4.4	Ošetření modelových roztoků o různém pH pomocí plazmatu.....	34
3.4.5	Stanovení sulfamethoxazolu v odebraných vzorcích	35
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	36
4.1	Kalibrační závislost	36
4.2	Modelové roztoky po aplikaci plazmatu	38
4.2.1	Vliv polarity hlavní elektrody na degradaci sulfamethoxazolu	38
4.2.2	Modelový roztok sulfamethoxazolu v neutrálním prostředí	40
4.2.3	Modelový roztok sulfamethoxazolu v kyselém prostředí	41
4.2.4	Modelový roztok sulfamethoxazolu v zásaditém prostředí.....	42
4.2.5	Vliv prostředí na degradaci sulfamethoxazolu pomocí plazmatu	43
4.2.6	Stanovení rychlostní konstanty	45
4.2.6.1	Porovnání AOP prostřednictvím rychlostních konstant	47
4.2.7	Porovnání účinnosti degradace sulfamethoxazolu v generátorech plazmatu	49
5	ZÁVĚR.....	50
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	51
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	61

1 ÚVOD

Bakalářská práce se zabývá aktuální problematikou narůstajících koncentrací reziduí léčiv a dalších mikropolutantů v životním prostředí [1]. Evropská unie se zabývá pouze okrajově politikou léčiv v oblasti vodní politiky a stanovila na základě dostupných informací krátký seznam sledovaných látek (zástupci z řad hormonů, pesticidů, nesteroidních protizánětlivých látek, ale také z řad antibiotik) [2]. Legislativa České republiky se zatím nezabývá vypouštěním těchto látek do vod a dochází zde k postupnému vzrůstu těchto koncentrací [3]. Tyto mikropolutanty se dostávají do životního prostředí z aktivit v zemědělství, chovu dobytku, ale také z odpadních vod (nemocniční, splaškové, průmyslové apod.). Mikropolutanty jsou obvykle látky málo těkavé a jejich další šíření do životního prostředí je vázáno především na vodní transport. Jelikož užívané konvenční metody na čistírnách odpadních vod nejsou schopny efektivně eliminovat tyto mikropolutanty z odpadních vod [1, 4, 5]. Tyto mikropolutanty a jejich metabolity pro nás představují nebezpečí, jelikož není znám jejich dlouhodobý dopad na lidské zdraví a na životní prostředí obecně [6].

K čištění odpadních vod se využívá na čistírnách odpadních vod celá řada procesů. Nejdříve dochází k tzv. mechanickému čištění pomocí lapáků, česel, průtočných sedimentačních nádrží a odlučovačů [7, 8]. Dále jsou odpadní vody čištěny pomocí biologických procesů zahrnující použití aktivovaného kalu. Takto vyčištěná voda je po primárním a sekundárním čištění vypouštěna do recipientu [8]. Tyto konvenční metody by měly být doplněny na čistírnách odpadních vod pomocí pokročilých oxidačních procesů (AOP), které by mohly sloužit k terciárnímu dočištění před vypuštěním čisté pitné vody do recipientu. Kvůli nízké účinnosti konvenčních metod pro eliminaci mikropolutantů je nutný rozvoj nových AOP, které by byly zároveň přijatelné jak po komerční stránce, tak i účinnosti odstranění [9].

Tato práce je zaměřena na antibiotika. Jelikož peniciliny jsou dobře odstranitelné pouhým využitím UV záření, tak byly zvoleny sulfonamidová antibiotika (konkrétně sulfamethoxazol) kvůli jejich relativně vysoké spotřebě a přijatelné ceně standardů [10–12]. Dalším důvodem pro volbu antibiotik je jejich špatná odstranitelnost konvenčními metodami, které jsou využívány na čistírnách odpadních vod a na úpravnách vod. Jelikož nejsou tyto látky následně odstraněny konvenčními metodami, tak se dostávají dále do půdy a pitné vody, kde představují nebezpečí pro vodní organismy, indukují bakteriální a při vyšších koncentracích mohou u lidí způsobit alergické reakce, toxické reakce, narušit střevní mikroflóru a mohou způsobit další zdravotní potíže. Dalším závažným problémem je také možné snížení produkce plodin a zvířat na farmách [6, 13–16].

Důležité je zmínit, že ekotoxické účinky léčiv na vodní a suchozemské organismy nejsou dostatečně prozkoumány. I přesto, že byla získána data o ekotoxicitě pro řadu léčiv, tak tyto informace neodráží skutečnou toxicitu v reálném ekosystému, a to zejména kvůli možnému synergickému účinku různých léčivých látek [1].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Léčiva

Léčiva jsou látky, nebo jejich směsi, které mají léčivé nebo preventivní účinky a jsou určeny k podání lidem (humánní přípravky) nebo zvířatům (veterinární přípravky). Léčivé látky mohou být přírodního nebo syntetického původu a jsou upravovány před aplikací do vhodné formy zvané léková forma. Léková forma obsahuje kromě léčivé látky i látku pomocnou, která usnadňuje aplikaci, uchování, popřípadě i výrobu léčivých látek [17].

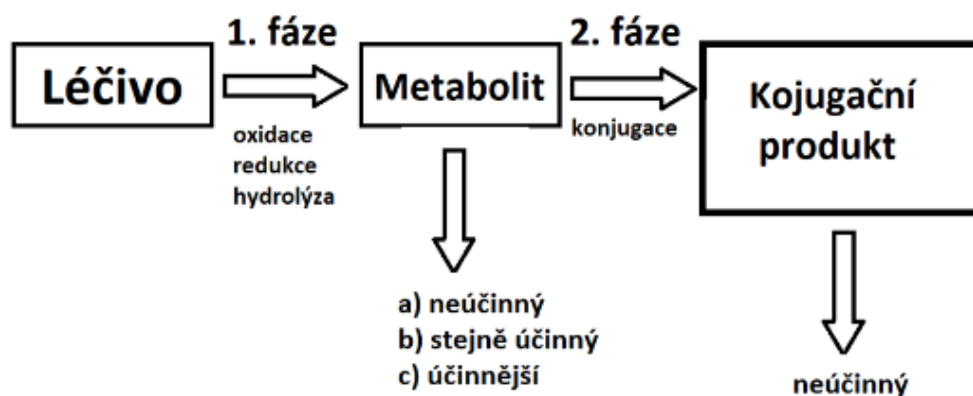
Lékové formy jsou děleny podle způsobu podání na enterální (přes trávicí trakt) a parentální (mimo trávicí trakt). Dále je možné lékové formy dělit podle formy na pevné (tablety, kapsle a pastilky), polotuhé (krémy, masti a gely) a kapalně (kapky a sirupy) [17]. Obvykle jsou léčiva klasifikována podle tzv. ATC klasifikace (anatomicko-terapeuticko-chemická). Tato klasifikace rozděluje léčiva do skupin podle místa účinku, tedy na které orgány působí [17, 18].

2.1.1 Farmakokinetické děje v organismu

Předmětem zájmu farmakokinetiky je osud léčiva v organismu, tedy cesta od jeho podání léčiva až po jeho vyloučení z organismu [19]. Aby bylo dosaženo požadovaného terapeutického efektu, tak musí být léčiva absorbována, distribuována a následně eliminována z těla ve formě metabolitů [20].

Před samotnou exkrecí léčiva z organismu dochází k tzv. biotransformaci. Biotransformace je biochemická přeměna xenobiotik (exogenních látek), tedy i léčiv, působením organismu dochází ke vzniku biotransformačních produktů (metabolitů). Biotransformační procesy léčiv jsou primárně katalyzovány enzymy a prostřednictvím těchto procesů se organismus postupně detoxikuje. Jelikož se jedná o několikastupňový proces navazujících biotransformačních reakcí, tak vznikající meziprodukty vykazují odlišné vlastnosti než výchozí látka [19].

Biotransformační děje zahrnují 2 fáze, jejichž určujícím kritériem je míra postupné detoxikace. V průběhu první fáze dochází k oxidačním, redukčním a hydrolytickým procesům, jejichž výsledkem je vznik metabolitů s částečně změněným farmakodynamickým účinkem (viz *Obrázek 1*). V průběhu druhé fáze dochází k detoxikaci, dochází ke konjugační reakci metabolitu z 1. fáze s aktivovaným metabolitem endogenního metabolismu (např. s glukuronidem). Dochází ke vzniku ionizovaného (hydrofilního) metabolitu, který je následně vyloučen z těla [19].

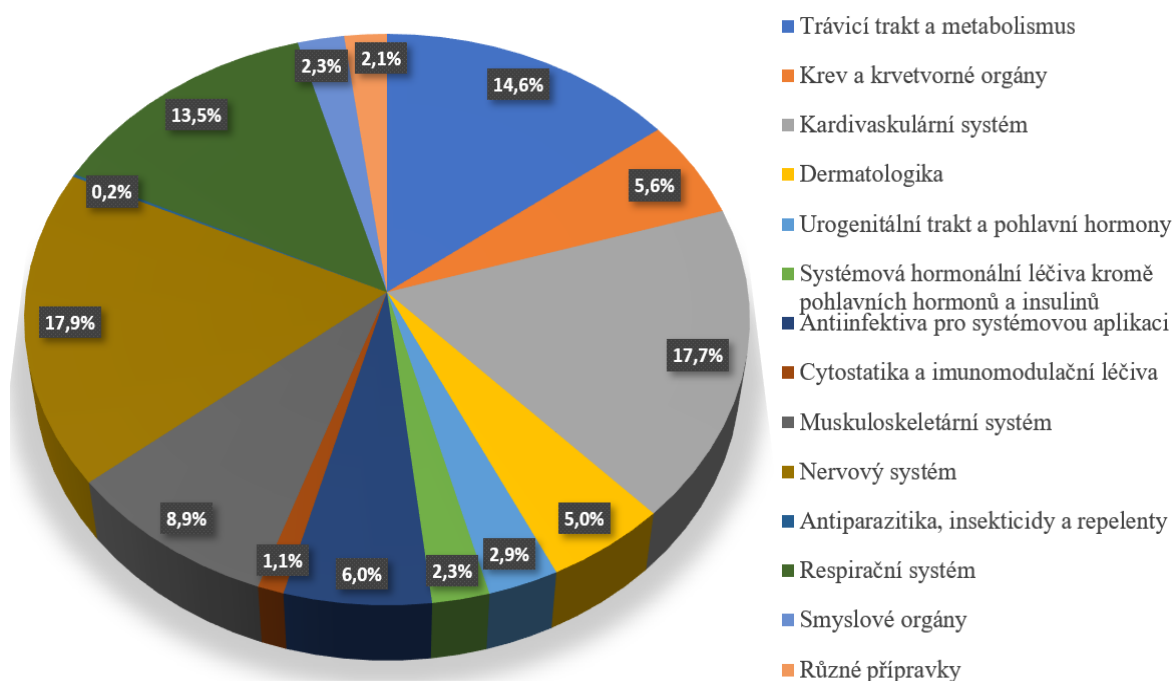


Obrázek 1: Biotransformační fáze ve vztahu k účinkům vzniklých metabolitů [19]

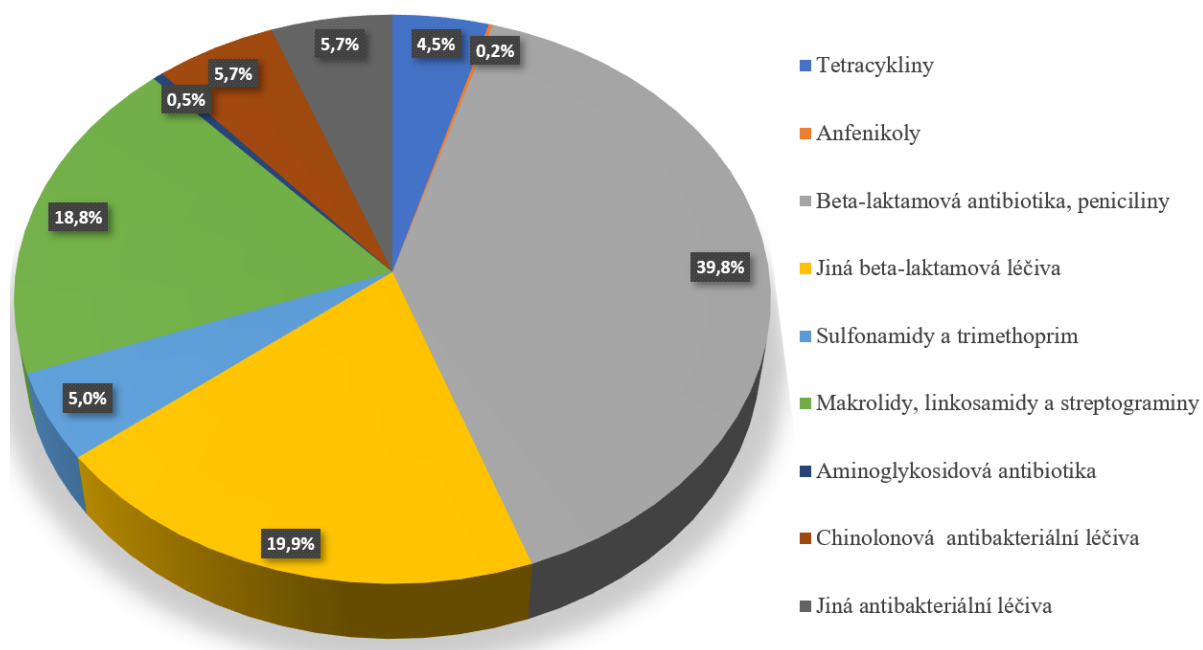
Závěrečným dějem farmakokinetiky je vyloučení léčiva z organismu. Obvykle organismus vylučuje léčivou látkou i její metabolity prostřednictvím ledvin, trávicím traktem, plícemi nebo minoritními cestami (pot, sliny a mateřské mléko) [19].

2.1.2 Spotřeba léčiv a sulfonamidových antibiotik

V České republice bylo za rok 2018 celkově spotřebováno 261 milionů balení léčivých přípravků. Z této celkové spotřeby podle ATC klasifikace tvořila antiinfektiva pro systémovou aplikaci 6,0 %, což odpovídá 15,6 miliónům balení léků (viz Graf 1). Antiinfektiva pro systémovou aplikaci jsou rozdělovány dále na podskupiny, mezi které také patří antibakteriální léčiva, která jsou nejpoužívanější z této skupiny (11,6 milionů balení léčiv). Z používaných antibiotik představují sulfonamidová antibiotika přibližně 5,0 % (viz Graf 2), což odpovídá 573 tisícům balení těchto antibiotik [12].



Graf 1: Procentuální spotřeba jednotlivých skupin léčiv (podle ATC) v ČR za rok 2018 [12]



Graf 2: Procentuální spotřeba jednotlivých typů antibiotik (podle ATC) v ČR za rok 2018 [12]

2.2 Antibiotika

Antibiotika jsou látky produkované mikroorganismy (produkty mikrobiálního metabolismu), které účinkují na mikroorganismy (antimikrobní účinek) a to zásahem do jejich rozmnožování (bakteriostatický účinek) nebo je přímo jejich usmrcením (baktericidní účinek) [21, 22]. Spektrum účinku antibiotik může být úzké nebo široké, podle počtu kmenů, na které efektivně působí. V případech, kdy aplikace antibiotika nemá žádný účinek, hovoříme o tzv. bakteriální rezistenci [22].

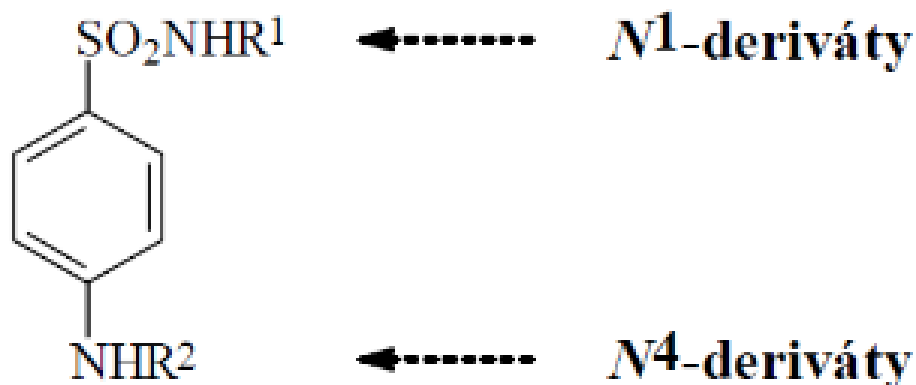
2.2.1 Rozdělení antibiotik

Jedná se o velmi rozmanitou skupinu látek, ať již způsobem přípravy (přírozená, semisyntetická a syntetická antibiotika) nebo mechanismem účinku [17, 23]. U antibiotik rozlišujeme 4 základní mechanismy účinku antibiotik: inhibici syntézy buněčné stěny, inhibice proteosyntézy, narušení cytoplazmatické membrány a v neposlední řadě inhibice syntézy nukleových kyselin (sulfonamidová antibiotika) [24].

Nejčastěji jsou antibiotika klasifikována na základě chemické struktury, jelikož jednoznačně rozděluje antibiotika do příslušných skupin. Chemická struktura určuje všechny fyzikální, chemické, farmakologické i klinické vlastnosti [25]. Antibiotika patřící do stejné skupiny vykazují podobné vlastnosti, jako je například podobná účinnost, toxicita a vedlejší účinky [26].

2.3 Sulfonamidová antibiotika

Sulfonamidová antibiotika neboli sulfonamidy byly zavedeny do praxe v průběhu 30. let 20. století. Jedná se o první syntetická antibiotika, jejichž průmyslová výroba byla možná kvůli jejich jednoduché struktuře (viz *Obrázek 2*). Z hlediska chemické struktury jsou sulfonamidy deriváty kyseliny sulfanilové (kyseliny para aminobenzoové = PABA) [27].



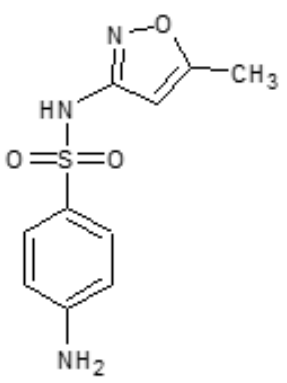
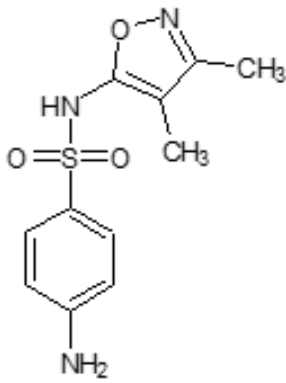
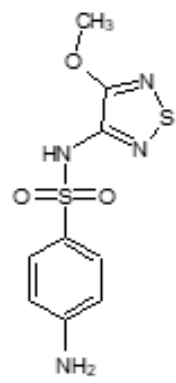
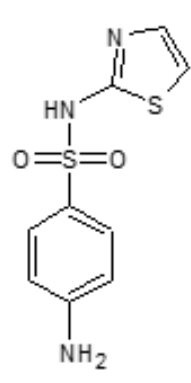
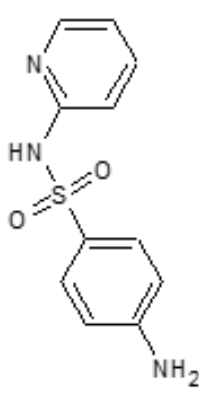
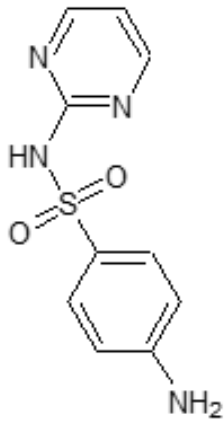
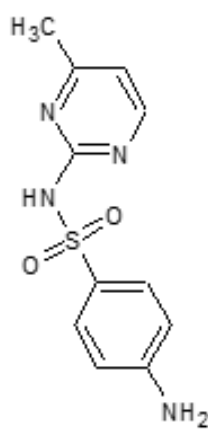
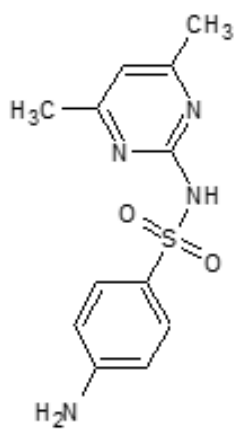
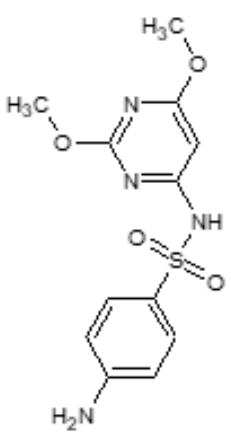
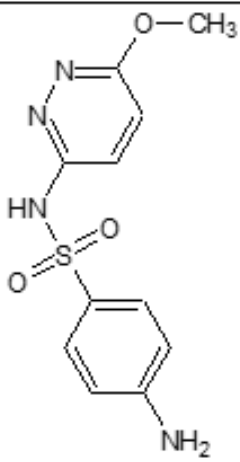
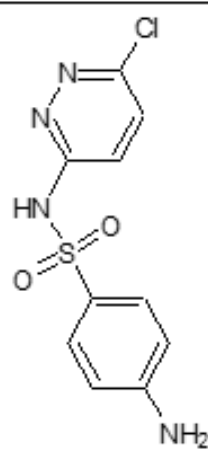
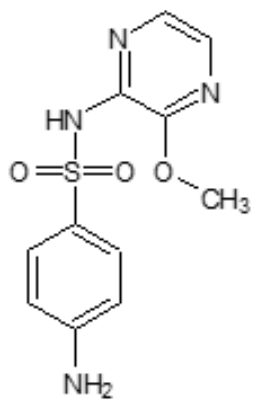
Obrázek 2: Základní chemická struktura sulfonamidů [17]

Sulfonamidy jsou syntetická bakteriostatická léčiva využívána v humánní, ale především ve veterinární medicíně. Některé tyto látky jsou také využívány jako herbicidy, jelikož jejich komplexy s Ag^+ nebo Zn^{2+} působí antifungálně [28].

Sulfonamidy jsou polární molekuly s amfoterními vlastnostmi (jejich N^4 aminoskupina je protonována při pH 2 až 3 a jejich N^1 amidová skupina je deprotonována při pH 4,5 až 11). Jejich rozpustnost ve vodě je relativně dobrá a jsou také mírně sorbovány půdou, což podporuje jejich šíření do životního prostředí. Jsou klasifikovány, jako fotostabilní a termostabilní látky s poločasem rozpadu delším než 1 rok. Podléhají alkalické hydrolýze a lehce reagují s hydroxylovými radikály ($\text{OH}\cdot$) [28].

2.3.1 Rozdělení sulfonamidových antibiotik podle chemické struktury

Sulfonamidová antibiotika jsou nejčastěji klasifikována na základě jejich chemické struktury. Základní strukturou sulfonamidů je kyselina para aminobenzoová. Většina sulfonamidů je získána substitucí vodíku na pozici N^1 a relativně malé množství substitucí vodíku na pozici N^4 (viz *Obrázek 3*). Celá řada různých substituentů vede ke vzniku produktů s rozdílnými farmakokinetickými, farmakodynamickými a fyzikálně chemickými vlastnostmi (vztah chemické struktury a účinku) [27].

			
Sulfamethoxazol	Sulfisoxazol	Sulfametrol	Sulfathiazol
			
Sulfapyridin	Sulfadiazin	Sulfamerazin	Sulfamethazin
			
Sulfadimehoxin	Sulfamethoxypyridazin	Sulfachloropyridazin	Sulfalen

Obrázek 3: Přehled struktur některých sulfonamidů [27]

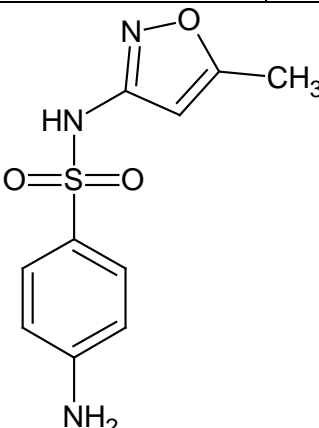
2.3.2 Vybraný analyt ze skupiny sulfonamidových antibiotik

Ze sulfonamidů byl vybrán jako vhodný analyt pro experimentální část **sulfamethoxazol**, jelikož se jedná o látku, která je nejčastěji součástí předepisovaných v České republice léčiv (např. v Kotrimoxazolu) a s tím souvisí i jeho relativně vysoká spotřeba [12].

2.3.2.1 Sulfamethoxazol

Sulfamethoxazol neboli 4-amino-*N*-(5-methylisoxazol-3-yl)benzensulfonamid [17]. Tato látka je také označována zkratkou SMX, jedná se o antibakteriální látku s bakteriostatickým účinkem řadící se do skupiny sulfonamidových antibiotik [29]. Slouží k léčbě urogenitálních infekcí, často se využívá v kombinaci s trimethoprimem (kombinace spočívá v synergické inhibici dvou po sobě jdoucích stupňů syntézy kyseliny listové) [17]. Sulfamethoxazol a trimethoprim spolu tvoří léčivo Kotrimoxazol (TMP-SMX). Jedná se o léčivo se středně dlouhým účinkem (11–17 hodin). Sulfamethoxazol je z těla eliminován prostřednictvím metabolismu jater a ledvin [29]. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik sulfamethoxazolu je zpracován v tabulce 1 [30].

Tabulka 1: Obecné a chemické vlastnosti sulfamethoxazolu [30]

Sulfamethoxazol (SMX)		
Název IUPAC	4-amino- <i>N</i> -(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)benzen-1- sulfonamid	
	CAS	723-46-6
	Molekulová hmotnost [g·mol ⁻¹]	253,278
	Sumární vzorec	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S
	Rozpustnost ve vodě (25 °C) [mg·ml ⁻¹]	0,459
	pKa1 (nejsilnější báze)	1,97
	pKa2 (nejsilnější kyselina)	6,16

2.3.3 Použití sulfonamidových antibiotik

Sulfonamidy slouží k léčbě infekcí způsobených bakteriemi a některými mikroorganismy [31]. Sulfonamidová antibiotika se podávají perorálně a jsou metabolizována v játrech a vylučována ledvinami [27]. Tyto antibiotika jsou využívány v humánní medicíně, ale především ve veterinární medicíně. V současné době je relativně vysoký výskyt bakterií s rezistencí na tyto antibiotika, ale také se vyskytuje řada nežádoucích účinků [31]. I přesto, že poklesla spotřeba sulfonamidových antibiotik v humánní medicíně, v rozvojových zemích jsou stále hojně využívány kvůli jejich relativně nízké ceně [32].

V humánní medicíně jsou využívány k léčbě infekce močových cest, ušních infekcí, bronchitidě a některým očním infekcím. Většina sulfonamidových antibiotik je využívána ve veterinární medicíně, kde slouží k léčbě dobytka a jako růstové stimulanty [31]. Používání antibiotik jako růstových stimulantů je zakázáno Evropskou unií od roku 2006 [28].

2.3.4 Nežádoucí účinky sulfonamidů

Mezi nežádoucí účinky patří nejčastěji alergické reakce, kožní problémy, fotosenzitivita, hematologické problémy, střevní potíže a mnohé další [33–35]. Sulfonamidy je nevhodné užívat během těhotenství. Sulfonamidová antibiotika a jejich metabolity jsou klasifikovány jako těžko odbouratelné organické sloučeniny, které přetrvávají v životním prostředí [27].

Mezi nežádoucí účinky můžeme také zařadit fakt, že lidé jsou vystaveni těmto polutantům prostřednictvím vody, ale také jídla (maso, mléčné výrobky apod.), které obsahuje rezidua léčiv včetně sulfonamidů [36]. Na základě dostupných informací jsou bezpečné koncentrace nižší než 100 µg/kg (100 ppb). Koncentrace o hodnotě 100 µg/kg nebo nižší nemá na lidské zdraví žádný efekt [13]. Avšak kvůli nedostatečně podrobným toxikologickým datům není znám přesný dopad na lidské zdraví u koncentrací vyšší než 100 µg/kg. Absence těchto dat může být jeden z důvodů proč se Evropská unie nezabývá regulací těchto látek [36].

Rezidua sulfonamidových antibiotik mohou mít krátkodobé nežádoucí účinky (alergické a toxické reakce), ale mohou způsobovat i dlouhodobé problémy. Mezi možné dlouhodobé problémy patří vznik bakteriální rezistence, narušení hormonální hladiny štítné žlázy, narušení populací prospěšných bakterií, ale také narušení střevní mikrobioty u lidí [13, 14]. Přítomnost těchto reziduí ve vodách může také negativně ovlivnit vodní organismy [15]. Dalším závažným problémem je také možné snížení produkce plodin a zvířat na farmách [16].

2.4 Legislativa ČR a léčiva

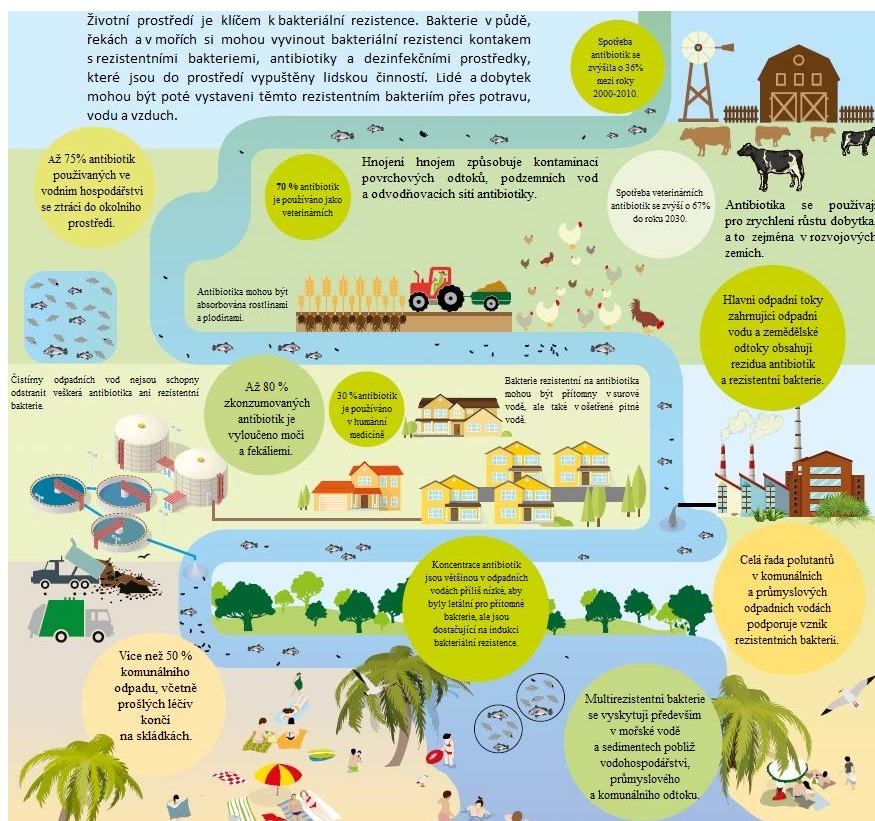
Evropská unie v roce 2015 vydala dokument Direktiva 2008/105/EC, který se zabývá politikou léčiv v oblasti vodní politiky. Dokument obsahuje seznam monitorovaných látek v odpadních vodách, které byly vybrány na základě dostupných informací (toxicita, koncentrace ve vodě apod.). V budoucích přezkumech by tento seznam měl být rozšířen o další prioritní látky a zároveň by měla být stanovena určitá norma kvality životního prostředí, kterou by musely členské státy dodržovat (seznam sledovaných látek aktualizován v roce 2018). Na seznamu jsou například zástupci z řad hormonů, pesticidů, nesteroidních protizánětlivých látek, ale také z řad antibiotik [2, 37].

Česká republika zatím nemá v legislativě regulaci pro monitoring léčiv ve vodním prostředí [3]. Některé členské státy (Nizozemsko, Švédsko, Švýcarsko atd.) již vyjádřily své obavy a přijaly opatření za účelem řešení zvyšujícího se výskytu léčivých přípravků v životním prostředí [38].

2.5 Cyklus antibiotik v životním prostředí

Spotřeba léčiv je vysoká a neustále se zvyšuje, v rámci Evropské unie je v humánní medicíně používáno přibližně 3 000 různých léčivých látek (analgetika, protizánětlivá léčiva, kontraceptiva, **antibiotika**, betablokátory apod.) [1]. Antibiotika se dostávají do životního prostředí z aktivit v zemědělství, chovu dobytka a dalších možných zdrojů. Léčiva jsou hojně využívána k veterinární léčbě a kvůli následnému využití hnoje ke hnojení půdy se mohou léčiva šířit splachy z polí až do vodního prostředí. Mezi významné bodové zdroje znečištění patří komunální odpadní vody z domácností a nemocniční odpadní vody [1, 4, 5]. Další možné zdroje znečištění jsou odpadní vody z průmyslové výroby a možné průsaky skládek odpadních vod, které také mohou obsahovat značné koncentrace těchto léčiv. Jelikož se jedná o látky málo těkavé, tak je jejich další šíření vázáno především na vodní transport. Léčiva, která nejsou účinně eliminována na čistírnách odpadních vod, následně kontaminují řeky, jezera, spodní vody dokonce i pitnou vodu apod. Schéma koloběhu antibiotik v životním prostředí je znázorněno na *obrázku 4* [1].

Důležité je také zmínit, že ekotoxické účinky léčiv na vodní a suchozemské organismy nejsou dostatečně prozkoumány. I přesto, že byla získána data o ekotoxicitě pro řadu léčiv, tak tyto informace neodráží skutečnou toxicitu v reálném ekosystému, a to zejména kvůli možnému synergickému účinku různých léčivých látek obsažených v odpadních vodách [1]. Přítomnost antibiotik v životním prostředí vytváří selektivitu pro bakterie s geny pro rezistenci, jelikož antibiotika usmrcují bakterie bez této rezistence. Již dnes se kvůli vysoké spotřebě antibiotik nacházejí v životním prostředí bakteriální populace s rezistencí na antibiotika [4, 5].



Obrázek 4: Koloběh antibiotik v životním prostředí – upraveno z [5]

2.5.1 Čistírny odpadních vod

Odpadní vody rozlišujeme na splaškové (z domácností, sociálních zařízení), průmyslové (např. jateční, mlékárenské, pivovarské) a srážkové. Proces čištění odpadních vod slouží k získání čisté vody o požadované kvalitě, která je následně zpět vypouštěna do vodního prostředí (ekosystému) [7]. Odpadní voda je sváděna do mechanicko-biologických čistíren, kde jsou pro čištění využívány procesy fyzikální, chemické nebo biologické podstaty [8].

V první fázi dochází k tzv. mechanickému čištění, kde se odpadní voda zbavuje hrubých nerozpuštěných předmětů a látek. V této fázi jsou využívány k hrubému předčištění lapáky štěrků (odstraňují velké a těžké předměty) a česla (zachycují větve, shluky trávy, hadry, papíry, zbytky potravin apod.). Shrabky, které se zachytávají mezi česlicemi, jsou odstraňovány shrabováním a následně jsou obvykle spalovány, kompostovány nebo skládkovány. Následně jsou používány různé typy lapáků, které slouží k odstranění suspendovaných, těžkých anorganických látek jako je písek a úlomky skla. K odstraňování organických nerozpuštěných látek dochází obvykle v průtočných sedimentačních nádržích, a to vlivem gravitačního působení. K odstranění částic (tuků, ropných látek a částic lehčích, než voda) slouží různé typy odlučovačů (např. flotace) [7].

Dále jsou odpadní vody čištěny pomocí biologických procesů, které zahrnují použití aktivovaného kalu. Mikroorganismy aktivovaného kalu jsou zodpovědné za biochemický rozklad látek v odpadních vodách. Kvalitativní i kvantitativní složení aktivovaného uhlí závisí zejména na složení přitékající vody (substrát) a technologických parametrech kultivace (jednorázová, semikontinuální nebo kontinuální). Organické látky jsou využity pro syntézu zásobních látek a biomasy nebo zoxidovány na oxid uhličitý a vodu za vzniku energie potřebné k pokrytí energetické spotřeby mikroorganismů. V rámci biologického stupně dochází k odstraňování fosforu a dusíku (nitrifikace a denitrifikace) [7]. Před biologický stupeň (do aktivační směsi) jsou dávkovány železnaté, železité nebo hlinité soli (obvykle síranů nebo chloridů), které způsobují srážení organického znečištění a vyvločkování následované sedimentací [7, 8].

Nejpoužívanějším způsobem biologického čištění je aktivační proces (kontinuální kultivace biomasy s recyklem aktivovaného kalu). V aktivační nádrži dochází k mísení odpadní vody a vratného aktivovaného kalu za průběžného provzdušňování (probíhají aerobní biologické pochody – oxidace organických látek, syntéza buněčného materiálu, autooxidace buněčného materiálu a nitrifikační pochody). Následně v dosazovací nádrži dochází k separaci aktivovaného kalu od vyčištěné vody. Zahuštěný aktivovaný kal je recirkulován zpět a nově vytvořená biomasa (přebytek aktivovaného kalu) je odstraňována [7]. Takto vyčištěná voda po primárním a sekundárním čištění může být vypouštěna do recipientu nebo popřípadě ještě dočištěna terciárním čištěním [8]. Pokročilé oxidační procesy by potenciálně mohly sloužit jako terciární čištění na čistírnách odpadních vod [9].

2.5.2 Polutanty v odpadních vodách

Konvenční procesy užívané na čistírnách odpadních vod nebyly primárně navrženy pro efektivní eliminaci mikropolutantů. Tyto polutanty a jejich metabolity, které nejsou v průběhu procesu kompletně eliminovány pro nás představují nebezpečí, jelikož není znám dlouhodobý dopad těchto polutantů na lidské zdraví a životní prostředí obecně [6].

Odpadní vody obsahují kovy, polycyklické aromatické uhlovodíky, pesticidy, těžké organické sloučeniny, chlorbenzeny, ftaláty, ale také léčiva (např. analgetika, **antibiotika**, hormony, beta-blokátory, antikonvulziva, protinádorové léky) apod. [6, 39].

Koncentrace jednotlivých polutantů v životním prostředí závisí na oblasti, ale také na vlivu počasí, a tedy i ročním období. Koncentrace polutantů v životním prostředí se mohou tedy výrazně lišit. Obecně nejvyšší koncentrace jsou očekávány v suchém období, kdy je zředění reziduí v řekách menší, v deštivém období naopak jsou koncentrace menší. Chladné podmínky mohou také přispívat k vyšším koncentracím mikropolutantů, kvůli snížené biodegradovatelnosti těchto látek [36].

Jak již bylo zmíněno, technologie užívané na čistírnách odpadních vod nejsou konstruované pro kompletní eliminaci mikropolutantů. V případě, že je změřena koncentrace těchto léčiv při vstupu a výstupu z čistíren odpadních vod, tak je možné určit, která léčiva nejsou v průběhu čištění odpadních vod eliminována a která naopak eliminována jsou. Z průměrných hodnot na přítoku a odtoku odpadních vod je možné vypočítat účinnost eliminace daného polutantu (pro sulfamethoxazol 17,5 %). Účinnosti odstranění jednotlivých mikropolutantů se velmi liší (viz *Tabulka 2*) [6, 16].

Hodnoty účinnosti eliminace sulfonamidů i ostatních polutantů se výrazně liší v jednotlivých studiích (pohybují se od záporných hodnot až ke 100 % úspěšnosti degradace). Hodnoty uvedené v různých studiích se liší zejména kvůli použité technologii na čistírnách odpadních vod. Úspěšnost odstranění sulfamethoxazolu se obvykle pohybuje v rozmezí 50 % až do záporných hodnot. Záporné hodnoty znamenají, že na výstupu byla naměřena vyšší koncentrace než na vstupu čistírny odpadních vod. Tento fakt se obvykle připisuje přítomnosti konjugátu a metabolitů sulfonamidů, které se mohou transformovat do původní podoby v průběhu čištění odpadních vod. Tomuto faktu také může přispívat matriční efekt, jelikož matrice na vstupu je složitější než na relativně čistém výstupu [36].

Jelikož jsou tyto mikropolutanty špatně eliminovány konvenčními technologiemi čistíren odpadních vod, tak je nutné najít doplnění ke stávajícím konvekčním metodám. Pokročilé oxidační procesy by potenciálně mohly sloužit jako terciární čištění na čistírnách odpadních vod [9, 40]. V experimentální části se budeme zabývat **možnou aplikací plazmatu**, jakožto zástupcem těchto procesů [40].

Tabulka 2: Koncentrace léčiv v odpadních vodách před a po čištění konvenčními metodami čistíren odpadních vod [6]

Skupina léčiv	Název látky	Přítok odpadních vod			Odtok odpadních vod			Úspěšnost eliminace (%)
		Průměrná koncentrace [µg/l]	Minimální koncentrace [µg/l]	Maximální koncentrace [µg/l]	Průměrná koncentrace [µg/l]	Minimální koncentrace [µg/l]	Maximální koncentrace [µg/l]	
Antibiotika	Ciprofloxacin	0,62	0,090	5,524	0,234	0,007	2,378	62,3
	Doxycyclin	0,65	0,067	2,480	0,420	0,038	1,090	35,4
	Erythromycin	0,58	0,346	0,830	0,297	0,109	0,620	48,8
	Norfloxacin	0,115	0,066	0,250	0,0526	0,007	0,330	54,3
	Ofloxacin	0,482	0,007	2,275	0,171	0,007	0,816	64,5
	Roxithromycin	0,780	0,027	1,500	0,472	0,008	0,870	39,5
	Sulfamethoxazol	0,320	0,020	0,674	0,264	0,070	0,620	17,5
	Trimethoprim	0,430	0,053	1,300	0,424	0,040	1,340	1,4
Antiepileptika	Karbamazepin	0,732	0,082	1,680	0,774	0,042	2,100	-5,7
Analgetika a protizánětlivá léčiva	Ibuprofen	13,482	0,0143	22,700	3,480	0,030	12,600	74,2
	Ketoprofen	0,483	0,146	0,940	0,333	0,125	0,630	31,1
	Naproxen	5,077	0,206	23,210	0,934	0,017	2,620	81,6
	Kyselina klofibrová	0,215	0,026	0,500	0,131	0,012	0,360	39,1
Fibráty	Bezafibrát	1,948	0,050	4,900	0,763	0,035	2,200	60,8
	Gemfibrozil	1,156	0,453	3,525	0,757	0,011	2,860	51,5
Beta-blokátory	Atenolol	1,080	0,030	1,197	0,468	0,160	1,025	56,7
	Metoprolol	1,535	0,020	4,900	0,679	0,019	1,700	55,8

2.6 Pokročilé oxidační procesy

Pokročilé oxidační procesy zkráceně AOP jsou studovány již řadu let kvůli jejich možnému použití při čištění odpadních vod [41]. Tyto procesy by mohly fungovat jako doplňující technologie ke stávajícím metodám, které jsou využívány na čistírnách odpadních vod [40].

Podstatou těchto procesů je především vznik hydroxylových radikálů, které jsou generovány v dostatečném množství, které je schopné eliminovat organické a anorganické polutanty odpadních vod nebo alespoň zvýšit jejich biodegradovatelnost. Hydroxylové radikály jsou velmi silná oxidační činidla s potenciálem 2,8 V (pH 0) až 1,95 V (pH 14). Životnost hydroxylových radikálů je v řádu mikrosekund. Tyto radikály vykazují neselektivitu a reagují tedy s celou řadou polutantů. Obecně účinnost eliminace polutantů závisí na zvoleném AOP, ale také na fyzikálních a chemických vlastnostech cíleného polutantu a zvolených podmínkách [41]. Za optimálních podmínek eliminace mikropolutantů by měly být výslednými produkty CO_2 a H_2O . Je důležité sledovat, zda nevznikají po úpravě vody vedlejší produkty, které mají toxické vlastnosti [40, 42]. Pokročilé oxidační procesy mají celou řadu výhod, ale i nevýhod (viz Tabulka 3) [42].

Tabulka 3: Výhody a nevýhody AOP procesů [42]

Výhody	Nevýhody
Rychlý proces	Omezená předpověď účinnosti procesu
Potenciál pro kompletní oxidaci	Vznik nežádoucích vedlejších produktů
Kompletní eliminace širokého spektra organických polutantů	Zbytkový H_2O_2 , O_3 musí být destruován
Spolehlivá dezinfekce (vedlejší produkt AOP)	Vysoké provozní náklady
Neselektivní reakce	Nutný výzkum

I přesto, že existuje celá řada pokročilých oxidačních procesů produkujících hydroxylové radikály, tak se jednotlivé metody odlišují v produkovaném množství těchto radikálů [9, 43]. Jelikož jednotlivé metody fungují za určitých podmínek, je tedy také nutné kromě účinnosti eliminace mikropolutantů pohlížet na danou problematiku také z ekonomického hlediska [9].

2.6.1 Rozdělení AOP procesů podle principu vzniku hydroxylových radikálů

Pokročilé oxidační procesy mohou být klasifikovány na základě podstaty vzniku hydroxylových radikálů (viz *Tabulka 4*) [44].

Tabulka 4: Rozdělení AOP podle principu vzniku hydroxylových radikálů [44]

Podstata vzniku	Reakční systém
Chemické a katalytické procesy	O_3 , O_3/H_2O_2 , Fe^{2+}/H_2O_2 , Fe^{3+}/H_2O_2
Elektrické procesy	Elektrické výboje v kapalině (korónový, doutnavý apod.)
Mechanické procesy	Ultrazvuk, Radiolýza
Fotochemické a fotokatalytické procesy	UV, UV/H_2O_2 , UV/O_3 , $UV/O_3/H_2O_2$,

Z těchto procesů se v experimentální části budeme zabývat tvorbou hydroxylových radikálů prostřednictvím nízkoteplotního plazmatu v kapalině, v němž se synergicky uplatňují všechny výše uvedené procesy. Největší podíl mají procesy elektrické, významné jsou ale i chemické, fotochemické a mechanické procesy, a to v závislosti na podmínkách generovaného plazmatu v kapalině [45–47].

2.6.2 Plazma

Je-li plynu dodána tepelná energie, tak dochází k ionizaci molekul tohoto plynu a ke vzniku plazmatu. Plazma je často označováno jako čtvrté skupenství. Vlastnosti plazmatu jsou velmi odlišné od ostatních skupenství. Nejvýznamnější jsou následující vlastnosti [48].

- Obsahuje volné nosiče elektrického náboje [48].
- Vykazuje kolektivní chování (reaguje jako celek na elektrická, magnetická pole) [48].
- Je kvazineutrální, jelikož obsahuje stejné množství kationtů a aniontů (obsahuje i neutrální částice) [48]. Tato neutralita je ve velmi blízkém okolí nábojů, stěn reaktoru či předmětu vložených do plazmatu narušena kvůli rozdílné pohyblivosti ionizovaných částic [49, 50].

Plazma můžeme klasifikovat na základě teploty, střední energie částic a stupně ionizace na vysokoteplotní plazma a nízkoteplotní plazma (NTP) [51, 52]. Částice vysokoteplotního plazmatu mají střední energii větší než 100 eV a teplota je větší než 1 MK a dochází k téměř 100% ionizaci [52]. U nízkoteplotního plazmatu mají vysokou teplotu pouze elektrony (teplota elektronů až 10^5 K) a stupeň ionizace dosahuje zpravidla maximálně 10 %. Jelikož je stupeň ionizace nižší, tak většina molekul zůstává neutrální [52, 53]. Celková teplota nízkoteplotního plazmatu záleží na typu výboje, zpravidla se pohybuje od pokojové teploty až po cca 200 °C. Nízkoteplotní plazma nachází řadu uplatnění v medicínských aplikacích, ale také v oblasti degradace polutantů v odpadních vodách [51, 54–56].

2.6.3 Nízkoteplotní plazma v kapalině

Výboje vznikající ve vodě a v kapalinách se obecně liší od těch vznikajících v plynech, ale princip vzniku výboje je v obou případech stejný. Dodaná elektrická energie způsobuje zrychlení a následnou kolizi nabitých částic s neutrálními molekulami nebo atomy a následuje jejich disociace na ionty [57]. NTP nachází řadu uplatnění, ale pro naše použití je důležitá hlavně eliminace mikropolutantů v odpadních vodách [56].

Generování plazmatu ve vodě je značně zkomplikováno vlastnostmi prostředí [58]. Voda má oproti plynům vyšší hustotu, a tedy i vyšší frekvenci srážek částic a nižší pohyblivost nabitých částic. Jedná se o polární rozpouštědlo s vysokou permitivitou ($\epsilon_r = 80$). Dalším faktorem ovlivňujícím hoření plazmatu je přítomnost iontů a jejich rozdílná pohyblivost v rozpouštědle. Tyto rozdílnosti stojí za nutností aplikovat mnohem vyšší napětí (1 MV/cm) než v případě plynné fáze (30 kV/cm) [59, 60].

Ke generaci výbojů v roztoku je využívána celá řada různých konfigurací elektrod (hrot-hrot, hrot-rovina, diafragma, koaxiální, kapilární apod.). Na elektrody je možné vkládat střídavé napětí (AC) nebo stejnosměrné napětí (DC), dále je možné také měnit další parametry (výška napětí, polarita elektrod, frekvence napětí a režim napětí – kontinuální či pulzní). Celá řada těchto parametrů ovlivňuje efektivitu plazmového reaktoru [61].

Často používanou konfigurací elektrod k degradaci polutantů je hrot-rovina. Toto uspořádání jsme použili k degradaci sulfamethoxazolu [61]. Intenzita elektrického pole je určena v tomto případě vzorcem [60]:

$$E = \frac{U}{r_c}, \quad (1)$$

kde U je velikost vkládaného napětí a r_c je poloměr křivosti hrotu. Hrot tedy umožňuje generaci plazmatu prostřednictvím nižšího napětí než jiné typy konfigurací elektrod [60]. Jako materiál hrotu (anody) se obvykle používá wolfram, kvůli jeho rezistenci vůči korozi a vznikajícím rázovým vlnám [61]. V případě, že je wolframový drát pokryt kompaktní keramickou vrstvou a tato keramická vrstva přesahuje wolframový drát, tak je kombinován výboj na šterbině s korónovým výbojem [60, 62]. Jako protielektroda byla použita plochá hliníková elektroda (katoda) [61].

2.6.3.1 Procesy iniciované plazmatem v kapalině

Princip vzniku plazmatu v kapalinách není ještě zcela objasněn. Obecně existují dvě teorie popisující princip zapálení výboje v kapalinách: elektronová a termální (bublinová) teorie [45].

Elektronová teorie zastává názor, že když elektron je vložen do vnějšího elektrického pole, tak je urychlen působící elektrickou silou. Má-li tento elektron dostatečnou kinetickou energii, tak může svým nárazem způsobit ionizaci okolních molekul a tím zapříčinit vznik dalších volných elektronů až vznik elektronových lavin [63]. Tyto elektronové laviny stojí za šířením výboje do okolí plazmovými kanálky (streamery) [46]. Plazmové kanálky mají průměr 10 μm a mohou se šířit v kapalném prostředí do vzdálenosti větší než jeden centimetr [46, 64]. Vysokoenergetické elektrony vytvořené elektrickým výbojem se sráží s okolními molekulami, což způsobuje excitaci, disociaci, elektronový záchyt nebo ionizaci okolních molekul. V případě, že se jedná o vodné prostředí, tak primárním reaktantem těchto elektronů jsou molekuly H_2O [46].

Bublinová teorie předpokládá názor, že kapalina je ohřívána a vypařována procházejícím proudem, což způsobuje vznik mikrobublinek. Mikrobublinky mohou být přítomné i ve formě rozpuštěných plynů. Bubliny plynu se generují blízko hrotu elektrody, kvůli Jouleovu teplu [45, 63]. Následně dochází k vytvoření výboje uvnitř bubliny, obsahující páru kapaliny [45].

To, jakým způsobem dochází k iniciaci, je ovlivněno především charakterem vstupního napětí. V případě že je vkládáno stejnosměrné napětí, převládá bublinový princip a je-li vkládáno vysokofrekvenční napětí, tak probíhá přímá ionizace molekul vody (elektronová teorie) [45, 63, 65].

Obecně je vznik výbojů v kapalinách spojen s tvorbou UV záření a rázových vln, které také napomáhají destrukci polutantů. Elektrony iniciují plazmochemické reakce produkující volné radikály a ionty, které jsou schopny eliminovat polutanty [46]. Elektrony jsou velmi důležité, jelikož slouží jako prekurzory pro tvorbu řady částic s vysokou energií [64]. Rozlišujeme 2 typy chemicky aktivních částic, a to s krátkou dobou života (radikály – O^\bullet , OH^\bullet , N^\bullet , O_3^\bullet , N_2^\bullet , N^\bullet , OH^- , O_2^- , O^- , O_2^{+*} , N_2^+ , N^+ , O^+ apod.) a s dlouhou dobou života (neutrální molekuly s vysokým oxidačním potenciálem H_2O_2 a O_3) [45, 46]. Jednotlivé částice mohou vznikat několika různými mechanismy, například hydroxylové radikály mohou vznikat těmito reakčními mechanismy [47]:

- Termická disociace molekul vody [47]



- Disociace molekuly vody nárazem elektronu [47]



- následnou reakcí hydroxylových radikálů vzniká peroxid vodíku [46]

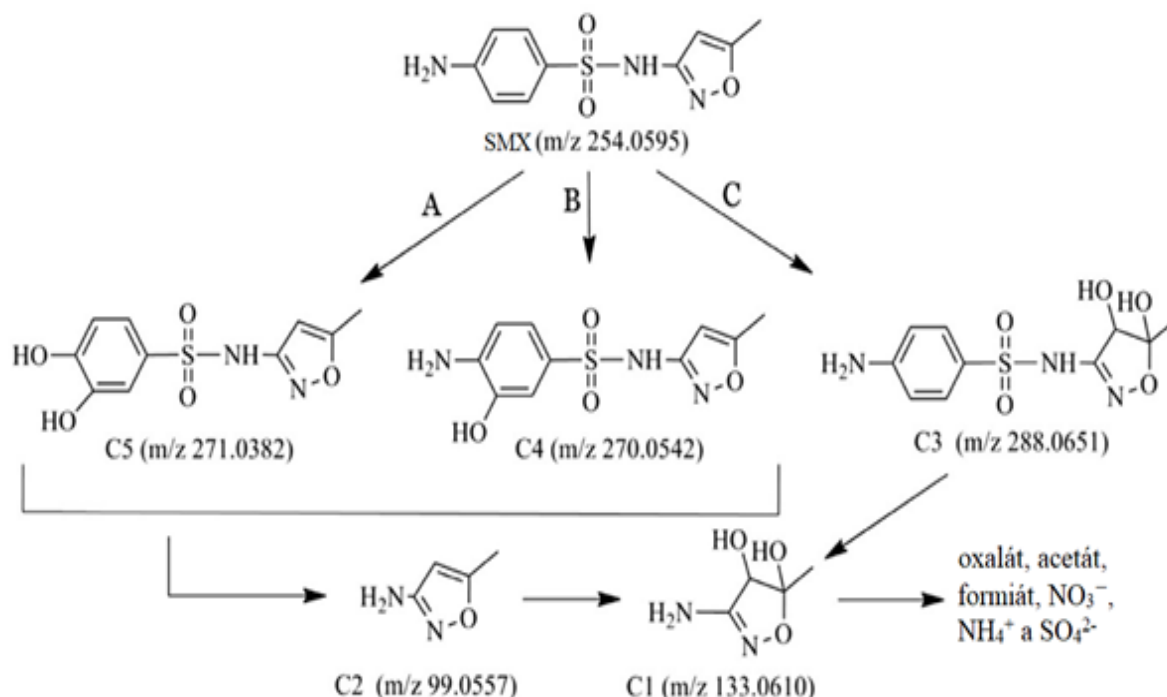


Vznik výbojů v kapalinách může být doprovázen vyzařováním světla. Emisní spektra jsou tvořena především excitovanými hydroxylovými, vodíkovými, kyslíkovými a sodíkovými atomy. Nejvýraznější emise je pozorována u sodíku, kde u elektrody může být pozorováno oranžové zbarvení plamene plazmatu [64, 66].

2.6.3.2 Produkty degradace sulfamethoxazolu plazmatem

Za účelem stanovení a porozumění degradačního mechanismu sulfamethoxazolu a následně jeho produktů, byl roztok tohoto antibiotika ošetřen plazmatem. Ke stanovení jednotlivých meziproduktů a výsledných produktů se využívá celá řada analytických metod, ale zejména kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií [67].

Možný degradační mechanismus sulfamethoxazolu, ale i ostatních sulfonamidových antibiotik byl stanoven z izolovaných produktů, které byly charakterizovány v průběhu aplikace plazmatu. Degradační mechanismus sulfamethoxazolu je pravděpodobně následovný (viz Obrázek 5): nejdříve dochází k hydroxylaci radikály za vzniku meziproduktů C5, C4 a C3. Produkty C1 a C2 vznikají štěpením S-N vazeb zmíněných meziproduktů a následně dochází k degradaci až na oxalát, acetát, formiát, NO_3^- , NH_4^+ a SO_4^{2-} . I přesto, že dochází k mineralizaci až na tyto výsledné produkty, je nutné posoudit ekonomickou stránku, jelikož je nutné roztok ošetřovat plazmatem po delší dobu nebo vkládat vyšší napětí [67].



Obrázek 5: Možný mechanismus degradace sulfamethoxazolu – upraveno z [67]

2.7 Chromatografie

Chromatografie je jedna z nejrozšířenějších a nejvýznamnějších analytických separačních metod. Chromatografie je metoda založená na fyzikálních a chemických interakcích, prostřednictvím kterých jsou jednotlivé složky analytu (molekuly analytu) rozdělovány mezi mobilní a stacionární fázi na základě velikosti afinit k dané fázi [68, 69].

2.7.1 Rozdělení chromatografie

- podle geometrie chromatografického systému
 - plošné uspořádání (papírová chromatografie a chromatografie na tenké vrstvě)
 - kolonovém uspořádání (plynová a **kapalinová chromatografie**) [68]
- podle způsobu vyvíjení
 - vytěsňovací
 - frontální
 - **eluční** [69]

Nejčastěji je využíváno eluční vyvíjení, kdy je vzorek nadávkován na kolonu a následně prochází kolonou mobilní fáze (eluční činidlo), dokud nejsou jednotlivé složky vyeluovány. Pořadí eluovaných složek záleží na afinitě ke stacionární fázi a k mobilní fázi, tedy na jejich poměru. V případě, že jednotlivé složky nemají dostatečně rozdílné afinity, tak nedojde k jejich separaci [69].

2.7.2 Kapalinová chromatografie

Jedná se o separační techniku sloužící k separaci rozpuštěných iontů nebo molekul. Separační proces je založený na rozdělování mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze (stacionární a mobilní fázi) [70, 71]. Fáze stacionární je nepohyblivá (pevné částice vyplňující kolonu) a fáze mobilní je pohyblivá (kapalina) [70]. Existuje celá řada separačních mechanismů (adsorpce, rozdělovací, výměna iontů, vylučovací, afinitní atd.), ale všechny jsou založeny na distribuci mezi stacionární a mobilní fázi [71]. Při separaci se obvykle uplatňuje více mechanismů zároveň, ale jeden je vždy dominantním [69].

Systém kapalinové chromatografie je tedy představován dvěmi fázemi (mobilní a stacionární). Separace začíná nástřikem vzorku do chromatografického systému. Složky vzorku nejdříve vytvoří na začátku kolony zónu, kde jsou obsaženy všechny složky směsi. Každá složka směsi má rozdílnou afinitu ke stacionární fázi, a tedy i rozdílný počet (četnost) a velikost interakcí v průběhu separace. Čím větší afinitu má složka vzorku ke stacionární fázi tím déle setrvá v koloně a má delší tzv. retenční čas. Každá molekula vzorku v průběhu chromatografické separace přejde mnohokrát z mobilní fáze na stacionární fázi a zpět (udržuje se stav blízky rovnováze). Mobilní fáze postupuje kolonou určitou rychlostí a unáší vzorek, který je zrovna součástí mobilní fáze. Interaguje-li zrovna složka vzorku se stacionární fází, tak nedochází k migraci chromatografickým systémem. Každá složka postupuje kolonou tedy jinou rychlostí na základě své afinity [70].

Mezi krajní případy patří, když daná složka má velmi vysokou afinitu k mobilní fázi a žádnou ke stacionární – v tomto případě dochází k eluci v tzv. mrtvém čase (doba, za kterou projde mobilní fáze chromatografickým systémem). Druhým krajním případem je, když složka vzorku interaguje pouze se stacionární fází a nedochází tedy vůbec k eluci. V běžné praxi se setkáváme s případy mezi těmito dvěma krajními extrémy [72].

2.7.2.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

V kapalinové chromatografii se využívá technika zvaná **HPLC (High performance liquid chromatography – Vysokoúčinná kapalinová chromatografie)**. Chromatografický systém má obvykle 2-4 zásobníky mobilní fáze a odplyňovač mobilní fáze (vakuové odplynění), jelikož mobilní fáze nesmí obsahovat rozpuštěný vzduch kvůli možným interferencím [68]. Vzorek musí být rozpustný v mobilní fázi a nesmí nenávratně interagovat se stacionární fází [73]. Čerpadla zajišťují konstantní průtok mobilní fáze, ale také jsou schopny měnit složení mobilní fáze v průběhu analýzy. To umožňuje izokratickou eluci (složení mobilní fáze neměnné) nebo gradientovou eluci, kdy se složení mobilní fáze mění v průběhu analýzy za účelem zvýšení eluční síly. Vzorek je dávkován do proudu mobilní fáze dávkovací smyčkou nebo autosamplerem. Před samotnou kolonou se nachází předkolona (popřípadě filtr), která prodlužuje životnost kolony a zároveň zlepšuje samotnou separaci zadržováním nečistot. Součástí kolony je také termostat, který zajišťuje vyšší reprodukovatelnost výsledků (teplota kolony zpravidla o něco vyšší, než je v laboratoři). Za vyšší teploty má mobilní fáze nižší viskozitu a tím je snížen zpětný tlak v koloně, což způsobuje rychlejší průtok mobilní fáze. Eluát putuje z kolony až na detektor. Funkčnost celého chromatografického systému je řízena a kontrolována počítačem, který zároveň sbírá data a umožňuje jejich zpracování [71].

Srdcem systému je kolona, používají se obvykle ocelové trubice o délce 3 až 25 cm s průměrem 4 až 8 mm. Kolony jsou naplněny různými typy částic (mikropartikulární, perfuzní, neporézní a povrchově porézní). Nejčastěji jsou využívány povrchově porézní částice, které mají pevné jádro a tenkou vrstvu absorbentu [71, 73].

Stacionární fáze je polární (neupravený silikagel) a jako mobilní fáze se používá nepolární rozpouštědlo (hexan, tetrahydrofuran). Takové uspořádání se označuje jako systém normálních fází (NP). Častěji se užívá modifikovaný silikagel, na který je navázán nejčastěji oktadecyl (stacionární fáze nepolární). Jako mobilní fáze se užívá polární rozpouštědlo (směs acetonitrilu a vody, methanolu a vody). Takové uspořádání se označuje jako systém s obrácenými fázemi (RP) [71].

Jako detektory jsou používány následující zařízení:

- UV-VIS spektrofotometrický detektor
- Diodové pole
- Fluorescenční detektor
- Refraktometrický detektor
- Elektrochemický detektor
- **Hmotnostní spektrometr** [68]

2.8 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie zkráceně MS je analytická metoda, založená na interakci iontů v plynné fázi s magnetickým a elektrickým polem [70]. Vzniklé ionty (anorganické, ionizované molekuly, jejich fragmenty a asociáty) jsou analyzovány podle jejich poměru hmotnosti a náboje (efektivní hmotnost). Výstupem měření je hmotnostní spektrum, tedy závislost četnosti jednotlivých iontů na efektivní hmotnosti [70, 73]. Nejdříve byla hmotnostní spektrometrie využívána ke stanovení hmotnosti atomů (objev izotopů) a následně i molekul. V dnešní době se využívá reverzně, tedy ke stanovení prvkového složení anorganických sloučenin, organických sloučenin, jejich izotopů ale i jejich fragmentů. Fragmenty udávají důležité informace o struktuře analyzovaných sloučenin. Dalšího pokroku bylo dosaženo spojením chromatografie s hmotnostní spektrometrií (tandemové techniky). Spojení HPLC-MS představuje velmi účinný analytický nástroj v oblasti polutantů životního prostředí a v mnoha dalších oblastech [74]. Hmotnostní spektrometrie je využívána jak v kvalitativní analýze (strukturní analýza a identifikace molekul), tak i v kvantitativní analýze až na úroveň stopových a ultrastopových množství. Hmotnostní spektrometr se skládá z vakuového systému, vstupu vzorku, iontového zdroje, separátoru iontů a detektoru iontů [73].

2.8.1 Vakuový systém

Jelikož ionty v plynné fázi jsou vysoce reaktivní, tak je žádoucí, aby jejich vznik a jejich dělení probíhalo za přítomnosti vysokého vakua (10^{-1} až 10^{-4} Pa). Z tohoto důvodu je ve všech částech hmotnostního spektrometru vakuum, výjimku představuje iontový zdroj v případě, že použitá ionizační technika pracuje za atmosférického tlaku (elektrosprej apod.) [73, 75]. Vysokého vakua v hmotnostních spektrometrech je dosaženo využitím rotačních čerpadel v kombinaci s turbomolekulárními nebo olejovými difúzními vývěvami [76].

2.8.2 Vstup vzorku

Při spojení hmotnostní spektrometrie s kapalinovou chromatografií, vchází vzorek přímo do iontového zdroje ve formě eluentu, kde dochází k tvorbě iontů některou z používaných ionizačních technik [73].

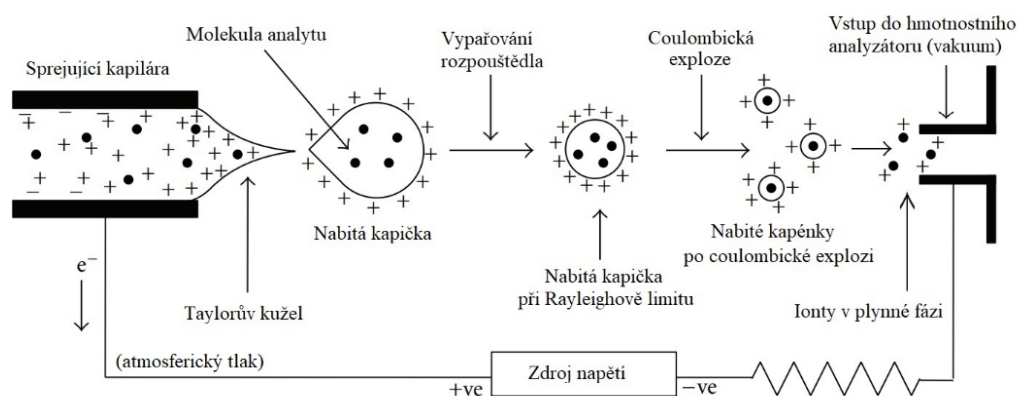
2.8.3 Iontový zdroj

Existuje celá řada ionizačních technik, které se používají ve hmotnostních spektrometrech. Tyto ionizační techniky můžeme rozdělit na základě skupenství vzorku (termální stability) [77].

- pro plynné vzorky
 - elektronová ionizace (EI) a chemická ionizace (CI)
- pro kapalné vzorky
 - **elektrosprej (ESI)**, chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI), fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI)
- pro pevné vzorky
 - desorpce a ionizace laserem za účasti matrice (MALDI) [77]

2.8.3.1 Elektrosprej

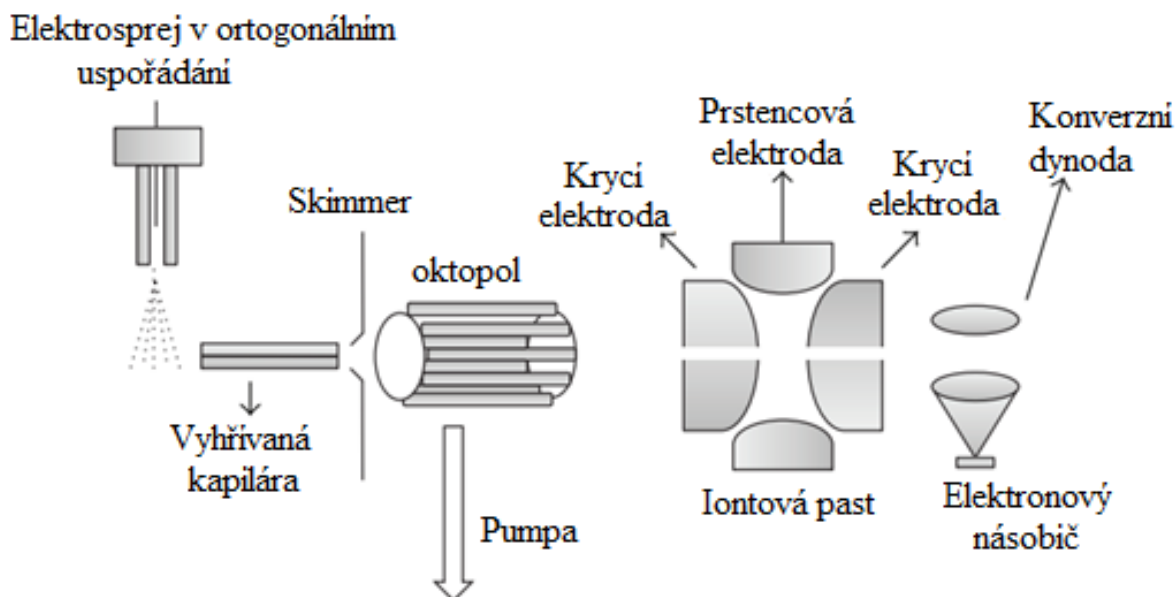
Při výběru iontové techniky pro kapalné vzorky, záleží především na vlastnostech analytu (polarita a tepelná stabilita). Elektrosprej zkráceně označován jako ESI je vhodným iontovým zdrojem pro ionizaci netěkavých polárních a iontových látek (nevhodný pro nepolární) [71]. Nutné je, aby ionty byly již v roztoku přítomné – nejsou přímo vytvářeny [76]. Další předností elektrospreje je, že je schopný ionizovat jak nízkomolekulární, tak i vysokomolekulární látky [73]. Elektrosprej je měkká ionizační technika, jelikož je velmi malé množství energie vkládáno na vzniklé ionty, tak tyto ionty zůstávají nedotčené. Polarita vznikajících iontů je řízena polaritou vodivé sprejovací kapiláry. Charakteristickým je vznik aduktů s rozpouštědlem ($[M+H]^+$, $[M+Na]^+$, $[M+H]^-$, $[M+Cl]^-$, atd.) [71].



Obrázek 6: Schéma a princip ionizace elektrospreje – upraveno z [75]

Elektrosprej (viz Obrázek 6) operuje za atmosférického tlaku, vzorek vtéká do vodivé kapiláry. Mezi vodivou kapilárou a protielektrodou (vstup do hmotnostního analyzátoru) je vkládáno stejnosměrné napětí o velikosti 3–6 kV (záleží na povrchovém napětí rozpouštědla) [68, 77]. V pozitivním módu (ESI+) dochází k pohybu kladně nabitých iontů i záporně nabitých iontů vlivem elektrického pole. Záporně nabité ionty se pohybují směrem od menisku a kladně nabité ionty se shromažďují na povrchu menisku kapiláry [78]. Téměř sférický tvar menisku se mění na tzv. Taylorův kužel v momentě, kdy odpudivé síly kladných iontů překročí síly povrchového napětí. Následně dochází k vylétávání kapének (sprejování) do vyhřívaného prostoru za atmosférického tlaku [77]. Tyto kapénky obsahují převážně kladně nabité ionty a jsou přitahovány k protielektrodě, která má opačný náboj. Cestou dochází k vypařování rozpouštědla a kapénky se postupně zmenšují, tím se zvětšují odpudivé síly uvnitř kapénky. V momentě, kdy odpudivé síly jsou stejně velké jako povrchové napětí kapénky, tak je dosažen tzv. Rayleighův limit. Při překročení tohoto limitu dochází k tzv. Coulombické explozi, kdy se kapénka rozletí na více menších kapének. Ke štěpení kapénky dochází vytvořením ocásku, z jehož špičky dochází k vystřikovávání menších kapének. Z těchto nově vzniklých kapének se odpařuje rozpouštědlo a znovu dochází ke Coulombické explozi. Celý proces se opakuje, dokud nevzniknou samostatné ionty v plynné fázi [78]. Tyto vzniklé ionty se dostávají z iontového zdroje přes vyhřívanou kapiláru, skimmery, popřípadě další fokusující prvky (rozhraní atmosférického tlaku a vysokého vakua) do hmotnostního analyzátoru (vysoké vakuum), kde již dochází k separaci iontů na základě jejich efektivní hmotnosti [75].

V případě potřeby sprejování vyšších průtoků se používá tzv. pomocného zmlžovacího mechanismu. Toho je dosaženo pomocí plynu (dusík), který je přiváděn pláštěm (kapilárou) okolo sprejující kapiláry [76]. Dále je možné sprejovat kolmo do vstupu hmotnostního analyzátoru (viz *Obrázek 7*). Výhodou tohoto uspořádání je, že do hmotnostního spektrometru nevstupují neutrální molekuly ani další nečistoty [75].



Obrázek 7: Schéma hmotnostního spektrometru – upraveno z [75]

2.8.4 Hmotnostní analyzátor

Zařízení separující ionty na základě poměru hmotnosti k náboji (několikanásobně nabitě ionty mají m/z nízký oproti jejich skutečné hmotnosti). Existuje několik typů hmotnostních analyzátorů (viz *Tabulka 5*), které fungují na rozdílném principu. Hmotnostní analyzátoři využívají k separaci elektrické pole (stejnoseměrné a střídavé) nebo magnetické pole, popřípadě jejich kombinaci [77].

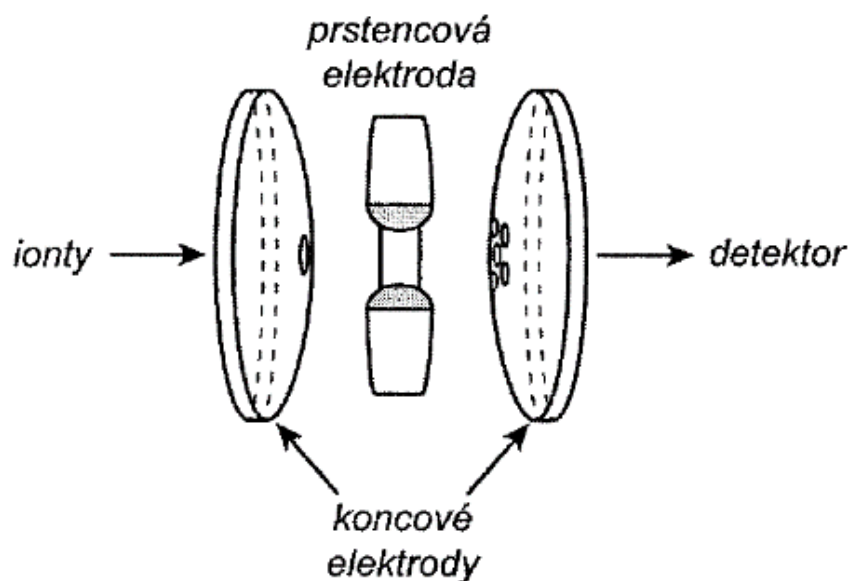
Tabulka 5: Přehled hmotnostních analyzátorů [77]

Typ analyzátoru	Symbol	Princip separace
Elektrický sektor	E (ESA)	Kinetická energie
Magnetický sektor	B	Magnetický moment
Kvadrupól	Q	m/z (stabilita trajektorií)
Iontová past	IT	m/z (rezonanční frekvence)
Průletový separátor	TOF	m/z (rychlost - doba letu)
Orbitrap	OT	m/z (rezonanční frekvence)

Důležitými charakteristikami hmotnostních analyzátorů jsou rozlišení, hmotnostní rozsah, přesnost zjišťovaných hmotností, dynamický rozsah a rychlost provedení skenu [73].

2.8.4.1 Iontová past

Iontová past zkráceně IT je složena ze dvou hyperbolických krycích (koncových) elektrod a jedné prstencové elektrody (viz *Obrázek 8*). V iontové pasti je trojrozměrné kvadrupólové pole, které je vytvářeno vkládáním střídavého radiofrekvenčního napětí mezi prstencovou elektrodu a dvě krycí elektrody. Frekvence radiofrekvenčního napětí je konstantní a jeho amplituda může být měněna. Ionty se dostávají otvorem jedné koncové elektrody až do iontové pasti, kde pod vlivem vkládaného radiofrekvenčního napětí oscilují (dochází k akumulaci iontů v pasti). Následně zvyšováním amplitudy radiofrekvenčního napětí dochází k postupnému vylétávání iontů otvorem druhé koncové elektrody na detektor [73].



Obrázek 8: Schéma iontové pasti [73]

Kolizní ochlazování během fáze, kdy se uchovávají ionty v iontové pasti, zvyšuje rozlišení a citlivost analyzátoru. Do iontové pasti je připouštěno plynné hélium (0,1 Pa) a kolizně mění trajektorii iontů blíže ke středu (odebírání iontům kinetickou energii). Iontová past patří mezi hmotnostní analyzátory, které nevyžadují vysoké vakuum, ale fungují při tlaku okolo 1 Pa. Další výhodou iontové pasti je její možné využití v tandemových technikách [79].

2.8.5 Detektor iontů

Ionty putují z hmotnostního analyzátoru přímo na detektor, kde je generován elektrický signál úměrný množství iontů. Jsou využívány následující detektory: fotografická deska, Faradayův detektor, ale především nejčastěji využívaný **elektronový násobič (EM)** [77].

2.8.5.1 Elektronový násobič

Elektronový násobič zkráceně EM, urychluje dopadající ionty na vysokou rychlost za účelem zvýšení úspěšnosti detekce. Ionty jsou urychleny prostřednictvím konverzní dynody, která má opačnou polaritu než ionty, které jsou detekovány. Dopadající ionty na dynodu způsobují emisi sekundárních částic (kladné ionty, záporné ionty, elektrony a neutrální částice). V případě, že do dynody narazí kladně nabitý iont, tak předmětem zájmu jsou záporně nabitý iont a elektrony. V případě že do dynody narazí záporně nabitý iont, tak předmětem zájmu jsou pouze kladně nabitý iont. Tyto sekundární částice jsou na první dynodě přeměněny na elektrony (nárazem dochází k emisi elektronů) a následně jsou amplifikovány kaskádovým efektem a převedeny na elektrický signál. Elektronový násobič je tvořen sérií 12 až 20 dynod, ale vyskytuje se i uspořádání, kde se využívá kontinuální dynoda (CDEM) [77].

Kontinuální dynoda je zatočená trubice a sekundární částice kolidují se zakřiveným vnitřním povrchem a dochází opět k produkci sekundárních elektronů, které jsou následnými kolizemi se stěnou amplifikovány a převedeny na elektrický signál. Na závěr je naměřený elektrický signál převeden počítačem na použitelná data s vhodným formátem [77].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Předmětem experimentální části práce bylo provedení experimentů aplikace plazmatu na modelové vzorky vod s obsahem sulfamethoxazolu v prostředí o různém pH a následně porovnat vliv prostředí na účinnost degradace sulfamethoxazolu. K posouzení účinnosti degradace sulfamethoxazolu z modelových vzorků připravených vod byla zvolena analytická metoda LC-ESI-MS.

3.1 Použité přístroje a pomůcky

Analytické váhy HR-120-EC, a & D Instruments Ltd.

Přístroj pro přípravu Milli-Q vody Millipore QGARD, Academic

Ultrazvuková vodní lázeň Kraintek 5

běžné laboratorní sklo a další vybavení

pH metr InoLab WTW series, Nameko, ČR

konduktometr/pH metr GRYF 107 LP

plazmový reaktor v laboratoři plazmových procesů (návrh a výroba: doc. RNDr. František Krčma, Ph.D.), patentově chráněn

Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series

- Kolona Kinetex C18 – délka 150 mm, vnitřní průměr 2,1 mm, velikost částic 2,6 μm

Hmotnostní spektrometr Agilent Ion Trap 6320 LC/MS

3.2 Použitý software pro zpracování a interpretaci dat

ChemStation for LC 3D Systems Rev. B.01.03-SR2

6300 Series TrapControl Version 6.2

6300 Series DataAnalysis Version 6.2

6300 Series QuantAnalysis Version 6.2

Microsoft Office Excel 365 ProPlus

Microsoft Office Word 365 ProPlus

GetData Graph Digitizer

3.3 Použité chemikálie a standard

3.3.1 Chemikálie

Milli-Q voda

Methanol – Chromasolv®, for HPLC o čistotě $\geq 99,9 \%$, Sigma Aldrich

Kyselina mravenčí o čistotě $\geq 98 \%$, Sigma Aldrich

Acetonitril – LC-MS Chromasolv® o čistotě $\geq 99,9 \%$, Sigma Aldrich

Chlorid sodný o čistotě $\geq 99 \%$, Sigma Aldrich

Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát o čistotě $\geq 98 \%$, Lach:ner

3.3.2 Standard

Sulfamethoxazol – Sigma Aldrich, čistota $\geq 99 \%$

3.3.3 Plyny

Dusík – 4.7 Siad Czech spol. s. r. o.

Helium – 6.0 Linde gas a. s.

3.4 Příprava roztoků

3.4.1 Příprava zásobních roztoků sulfamethoxazolu

Na analytických vahách bylo naváženo s přesností na 4 desetinná místa 10 mg sulfamethoxazolu. Následně bylo navážené množství analytu převedeno kvantitativně do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněno směsí methanolu a milli-Q vody (50:50) po rysku odměrné baňky. Obsah odměrné baňky byl důkladně promíchán a byl získán roztok o koncentraci 1 mg/ml.

Z připraveného roztoku o koncentraci 1 mg/ml bylo odpipetováno 100 μ l do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněno milli-Q vodou po rysku odměrné baňky. Obsah odměrné baňky byl opět důkladně promíchán a byl získán roztok o koncentraci 10 μ g/ml.

Následně z připraveného roztoku o koncentraci 10 μ g/ml byl odpipetován 1 ml do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněno milli-Q vodou po rysku odměrné baňky. Obsah odměrné baňky byl opět důkladně promíchán a byl získán roztok o koncentraci 1 μ g/ml.

3.4.2 Příprava kalibračních roztoků

Kalibrační roztoky byly připraveny postupným ředěním zásobního roztoku sulfamethoxazolu o koncentraci 1 µg/ml pomocí milli-Q vody. Koncentrační řada pro sulfamethoxazol byla zvolena tak, aby odpovídala koncentracím před a po aplikaci plazmatu na modelové roztoky. Byly připraveny kalibrační roztoky o koncentracích: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1,0 µg/ml.

3.4.3 Příprava modelových roztoků se sulfamethoxazolem

Modelové roztoky byly připravovány ze zásobního roztoku sulfamethoxazolu o koncentraci 1,0 mg/ml. Tyto modelové roztoky musely splňovat především podmínku dostatečně velké a vhodné vodivosti (400 ± 10 µS), jelikož v těchto roztocích dochází následně ke generování plazmatu (při zvolené vodivosti je snadno zapáleno plazma a zároveň je hodnota blízká vodivosti pitné vody). Kvůli dostatečné vodivosti byla do každého modelového roztoku přidána vhodná sůl, která zároveň modifikovala pH prostředí.

3.4.3.1 Modelový roztok sulfamethoxazolu s neutrálním pH

Nejdříve bylo rozpuštěno 90 mg NaCl v 500 ml milli-Q vody. Následně bylo přidáno NaCl nebo byl roztok naředěn milli-Q vodou, tak aby vodivost byla 400 ± 10 µS. Následně bylo do odměrné baňky o objemu 500 ml napipetováno 0,5 ml zásobního roztoku sulfamethoxazolu o koncentraci 1,0 mg/ml. Odměrná baňka byla doplněna po rysku pomocí připravené milli-Q vody s NaCl. Výsledná koncentrace modelového roztoku se sulfamethoxazolem byla 1,0 µg/ml.

3.4.3.2 Modelový roztok sulfamethoxazolu s kyselým pH

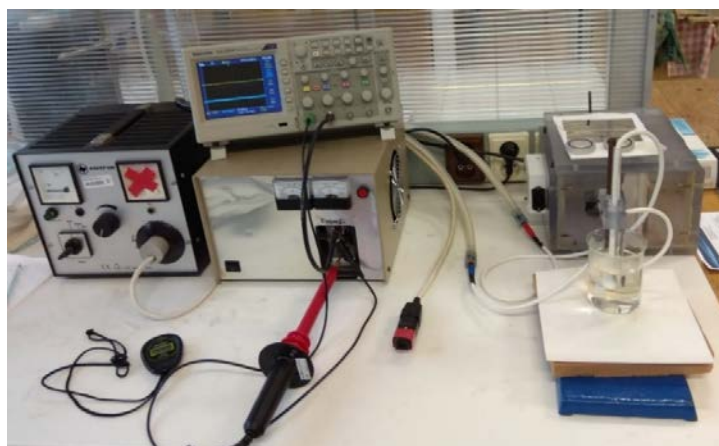
Nejdříve bylo napipetováno 133 µl HCOOH do 500 ml milli-Q vody. Poté bylo přidáno HCOOH nebo byl roztok naředěn milli-Q vodou, tak aby vodivost byla 400 ± 10 µS. Následně bylo do odměrné baňky o objemu 500 ml napipetováno 0,5 ml zásobního roztoku sulfamethoxazolu o koncentraci 1,0 mg/ml. Odměrná baňka byla doplněna po rysku pomocí připravené milli-Q vody s HCOOH. Výsledná koncentrace modelového roztoku se sulfamethoxazolem byla 1,3 µg/ml.

3.4.3.3 Modelový roztok sulfamethoxazolu se zásaditým pH

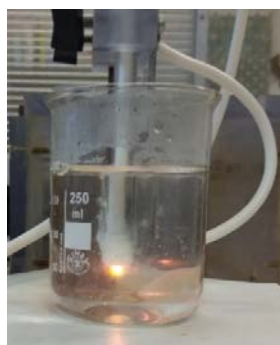
Nejdříve bylo rozpuštěno 300 mg Na₂HPO₄·12H₂O v 500 ml milli-Q vody. Poté bylo přidáno Na₂HPO₄·12H₂O nebo byl roztok naředěn milli-Q vodou, tak aby vodivost byla 400 ± 10 µS. Následně bylo do odměrné baňky o objemu 500 ml napipetováno 0,5 ml zásobního roztoku sulfamethoxazolu o koncentraci 1,0 mg/ml. Odměrná baňka byla doplněna po rysku pomocí připravené milli-Q vody s Na₂HPO₄·12H₂O. Výsledná koncentrace modelového roztoku se sulfamethoxazolem byla 1,0 µg/ml.

3.4.4 Ošetření modelových roztoků o různém pH pomocí plazmatu

Ke generaci plazmatu byl použit plazmový reaktor se stejnosměrným zdrojem vysokého napětí (viz *Obrázek 9* a *Obrázek 10*), který byl zapojen do elektrické sítě o napětí 230 V. Použitý reaktor se skládal z kádinky, která obsahovala připravené modelové roztoky sulfamethoxazolu. Do tohoto roztoku byly ponořené dvě elektrody, mezi které bylo vkládáno stejnosměrné napětí. Hlavní elektroda je představována wolframovým drátem v kompaktní keramické hlavici a jako protielektroda sloužila plochá hliníková elektroda. Jelikož keramická vrstva přesahuje délku wolframového drátu, dochází ke kombinaci výboje na štěrbině s korónovým výbojem. Výkon přiváděný na soustavu při ošetřování roztoku obsahující sulfamethoxazol dosahoval stabilně cca 50 W.



Obrázek 9: Zapojení použitého zdroje stejnosměrného napětí, osciloskopu, sondy a elektrod



Obrázek 10: Bližší pohled na reaktor a oranžové zbarvení plazmatu – přítomnost Na⁺ iontů

Nejdříve byl posouzen vliv polarity hlavní elektrody na účinnost degradace sulfamethoxazolu, a to tak že roztok byl ošetřován ve dvou různých zapojeních. V průběhu ošetřování byly provedeny odběry v čase 0; 2,5 a 5 minut, aby bylo možné vyhodnotit časovou závislost aplikace plazmatu na degradaci sulfamethoxazolu.

V průběhu ošetřování modelových roztoků plazmatem byly prováděny odběry každou minutu v časovém rozmezí 0 až 7 minut, aby bylo možné vyhodnotit časovou závislost aplikace plazmatu na degradaci sulfamethoxazolu. Měření bylo provedeno třikrát pro každé prostředí stejným způsobem, aby bylo posoudit reprodukovatelnost měření a porovnat vliv jednotlivých prostředí.

3.4.5 Stanovení sulfamethoxazolu v odebraných vzorcích

Jako vhodná analytická metoda pro stanovení koncentrace sulfamethoxazolu v odebraných vzorcích z reaktoru byla zvolena metoda LC-ESI-MS. Použitý kapalinový chromatograf a hmotnostní spektrometr je zobrazen na *obrázku 11*. Byla použita již optimalizovaná metoda pro analýzu sulfamethoxazolu, jejíž parametry na kapalinovém chromatografu a MS byly nastaveny podle *tabulky 6*.



Obrázek 11: Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series s hmotnostním spektrometrem Agilent 6320 Series Ion Trap LC/MS

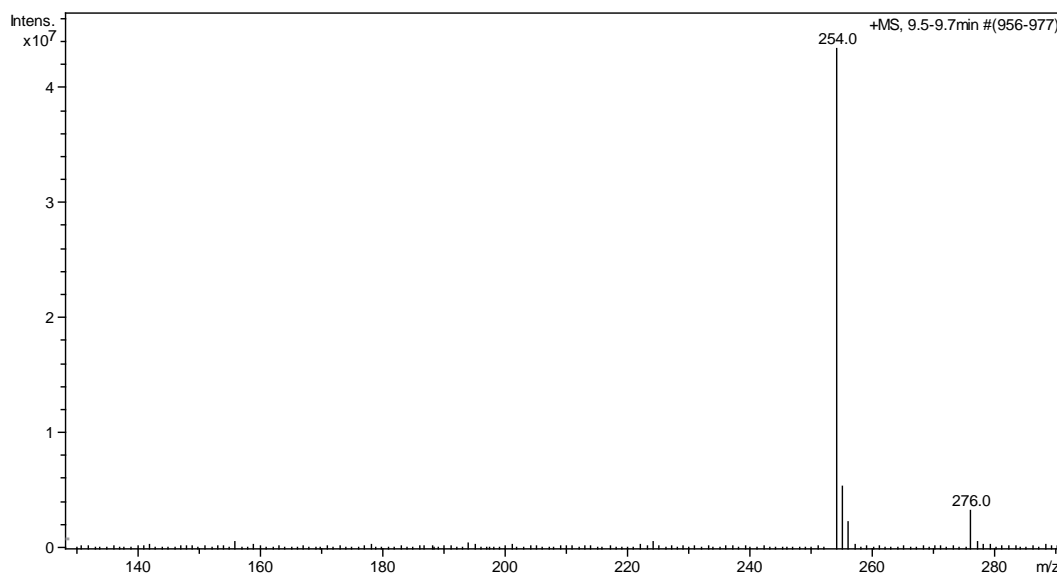
Tabulka 6: Optimalizovaná metoda LC-ESI-MS pro stanovení sulfamethoxazolu

HPLC parametry		
nástržik	3 μl	
průtok MF	0,22 ml·min ⁻¹	
teplota kolony	40 °C	
mobilní fáze	A: 0,01M HCOOH v MQ	
	B: Acetonitril	
gradient mobilní fáze	t [min]	B [%]
	0,0	10
	0,2	10
	13,6	100
	18,0	100
	21,0	10
posttime na ekvilibraci kolony	13 minut	
MS parametry		
tlak zmlžovače	25 psi	
průtok sušícího plynu	10 l·min ⁻¹	
teplota sušícího plynu	350 °C	
ionizační mód (polarita)	pozitivní – ESI+	
mód	scan	
rozsah skenovaných hmot	130 – 810 m/z	

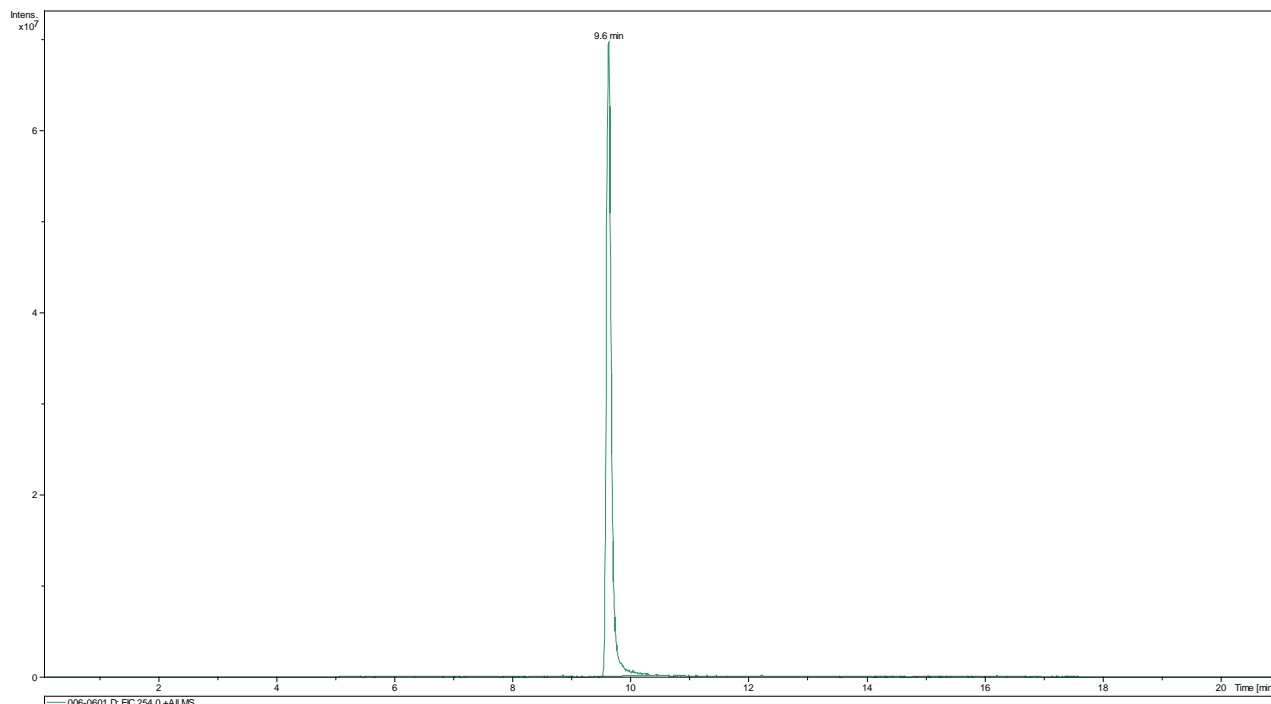
4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Kalibrační závislost

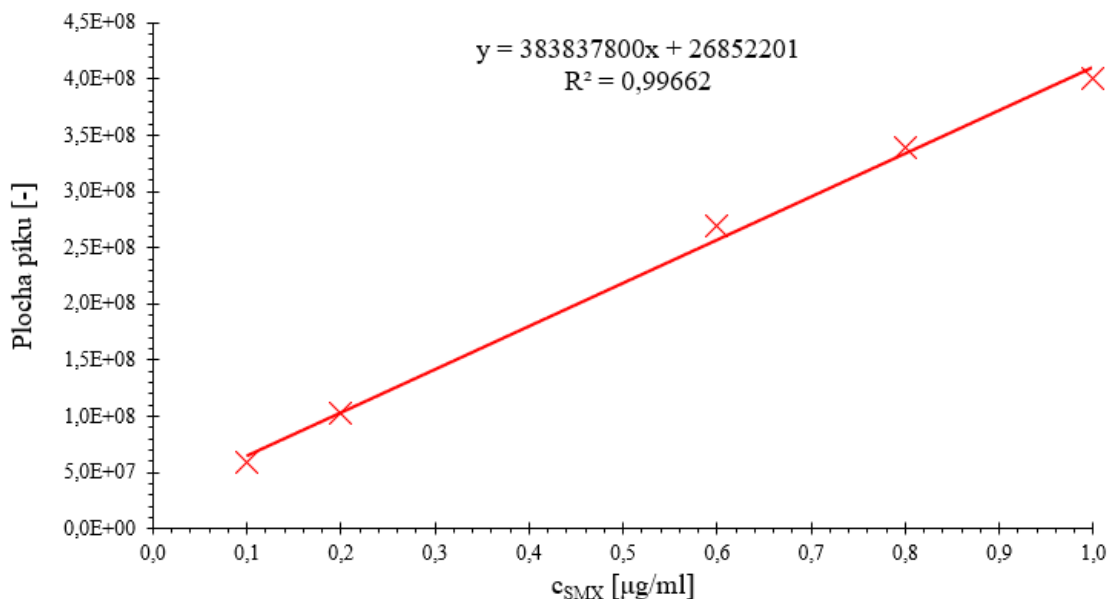
Před každým měřením odebraných vzorků po aplikaci plazmatu na připravené modelové vody byla proměřena kalibrační řada pro sulfamethoxazol. Z hmotnostního spektra (viz *Obrázek 12*) byla vybrána charakteristická efektivní hmotnost m/z 254 pro sulfamethoxazol a následnou integraci píků byly sestrojeny kalibrační závislosti SMX. Za optimalizovaných podmínek byl sulfamethoxazol vyeluován z kolony v čase 9,6 minut (viz *Obrázek 13*).



Obrázek 12: Hmotnostní spektrum sulfamethoxazolu (charakteristický pík 254 m/z)



Obrázek 13: Extrahovaný iontový chromatogram pro sulfamethoxazol (254 m/z)



Graf 3: Kalibrační závislost pro sulfamethoxazol (254 m/z)

S každým měřením byla změřena také kalibrační závislost pro sulfamethoxazol, podle které se vyhodnocovalo. V *grafu 3* je uvedena, jako příklad kalibrační závislost pro sulfamethoxazol s příslušným koeficientem korelace ze dne 21.3.2019. Dále byly stanoveny meze kvantifikace (LOQ) a meze detekce (LOD). Pro kalibrační závislost (viz *Graf 3*) bylo LOQ stanoveno na $0,1 \mu g \cdot ml^{-1}$ a $LOD = 0,0303 \mu g \cdot ml^{-1}$.

Limit kvantifikace je definován jako nejnižší koncentrace analytu, která může být ve vzorku zjištěna s úrovní přesnosti 10 % až 20 % podle měřených koncentrací (viz *Rovnice 5*) [71]. Limit detekce je nejnižší koncentrace analytu, která může být detekována, ale nemusí být možné ji kvantifikovat za daných podmínek (viz *Rovnice 6*) [80].

$$LOQ = C_{SMX}, \quad (5)$$

kde C_{SMX} je rovno nejnižší koncentraci kalibrační závislosti pro sulfamethoxazol [81].

$$LOD = \frac{LOQ}{3,3}, \quad (6)$$

kde LOQ je podle *rovnice 5* rovno nejnižší koncentraci kalibrační závislosti pro sulfamethoxazol [81].

4.2 Modelové roztoky po aplikaci plazmatu

4.2.1 Vliv polaritý hlavní elektrody na degradaci sulfamethoxazolu

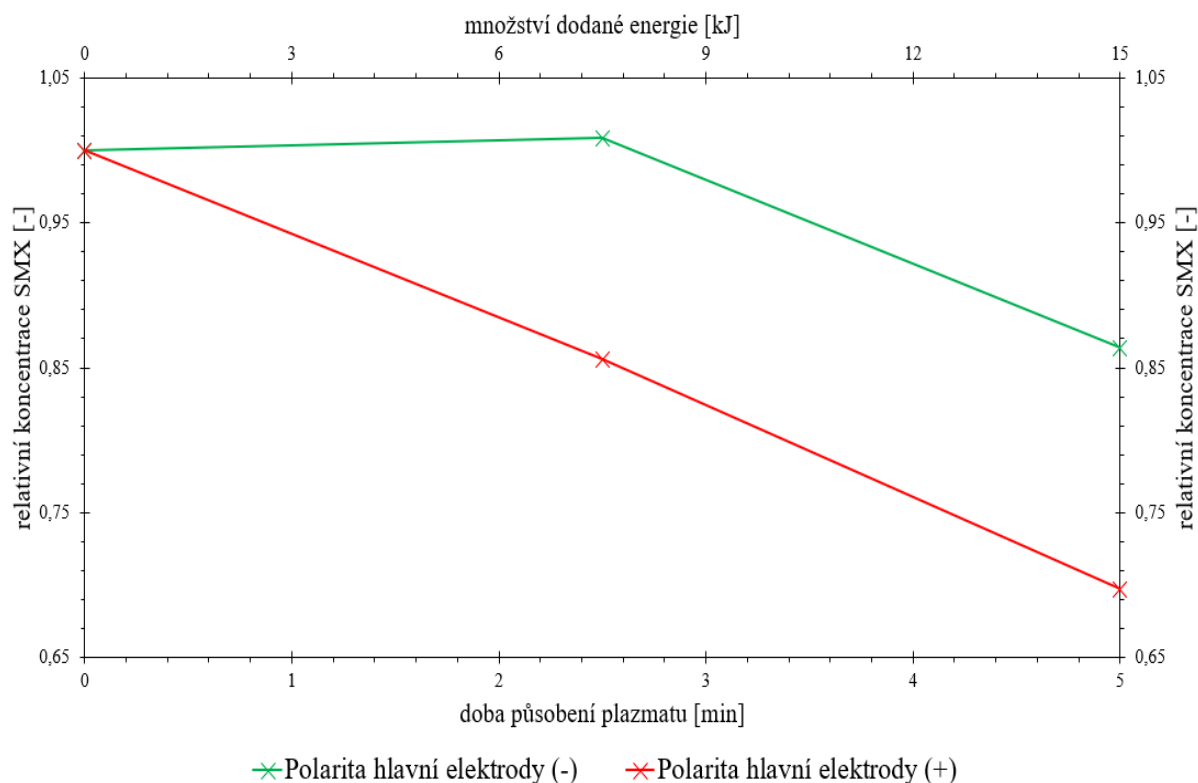
K posouzení vlivu polaritý hlavní elektrody na účinnost degradace sulfamethoxazolu byl modelový roztok sulfamethoxazolu s neutrálním pH ošetřen plazmatem. Nejdříve byla hlavní elektroda, která je představována wolframovým drátem v kompaktní keramické hlavici zapojena tak, aby měla zápornou polaritu a následně kladnou polaritu. Podmínky, za kterých byl modelový roztok SMX ošetřován plazmatem, časy odběrů, výchozí koncentrace SMX a naměřené hodnoty: teploty, pH a vodivosti roztoku před a po aplikaci plazmatu jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7: Sledované parametry a podmínky experimentu degradace SMX při odlišném zapojení hlavní elektrody

sledované parametry		před aplikací	po aplikaci	změna parametrů
teplota [°C]	+	23,4	49,0	+ 25,6
	–	23,4	60,0	+ 36,6
hodnota pH [-]	+	8,2	5,9	– 2,3
	-	8,2	7,4	– 0,8
vodivost [μS]	+	400,0	285,0	– 115,0
	-	400,0	310,0	– 90,0
podmínky experimentu				
výkon	50 W	použité chlazení		bez chlazení
objem reaktoru	200 ml	výchozí koncentrace SMX		1,1 μg/ml
odběry		po 2,5 minutách (0 až 5 minut)		

Kvůli procesům probíhajícím v průběhu aplikace plazmatu na roztok dochází ke změně teploty, hodnoty pH, ale také vodivosti (viz Tabulka 7). Během generování plazmatu při zapojení hlavní elektrody na zápornou polaritu docházelo k výrazně vyššímu zahřívání roztoku a tím i k nižší účinnosti degradace SMX než při zapojení na kladnou polaritu. K mnohem intenzivnějšímu zahřívání docházelo, jelikož dodávána energie se přeměňovala na kinetickou energii částic a tím se zvyšovala i teplota roztoku. Změna pH byla v případě hlavní elektrody na kladnou polaritu (2,3) značně vyšší než v případě zapojení na zápornou polaritu (0,8). Změna vodivosti byla rovněž při zapojení hlavní wolframové elektrody na kladnou polaritu vyšší (115 μS) než při zapojení na zápornou polaritu (90 μS).

Graf 4 znázorňuje závislost relativní koncentrace SMX na délce působení plazmatu v neutrálním prostředí, ale také na množství dodané energie vyjádřené v kJ při výkonu generátoru plazmatu 50 W po dobu 5 minut.



Graf 4: Závislost relativní koncentrace SMX na délce působení plazmatu (množství dodané energie) v neutrálním prostředí

Účinnost odstraňování sulfamethoxazolu při zapojení hlavní elektrody, tak aby měla kladnou polaritu a vedlejší elektroda zápornou polaritu, se projevilo výrazně účinnější (viz Graf 4). V případě, že hlavní elektroda byla anodou, tak bylo po 5 minutách úspěšně degradováno 30,28 % sulfamethoxazolu z modelového roztoku s neutrálním pH. V případě, kdy byla hlavní elektroda katodou, tak bylo po 5 minutách úspěšně degradováno 13,63 % sulfamethoxazolu z modelového roztoku s neutrálním pH.

Jelikož tyto experimenty ukázaly, že v případě, kdy je hlavní elektroda zapojena jako anoda mnohem efektivnější pro degradaci sulfamethoxazolu z modelových roztoků, tak následující experimenty zabývající se vlivem různých prostředí na degradaci sulfamethoxazolu byly vykonány v tomto zapojení i se stejným výkonem aparatury cca 50 W. Aby bylo dosaženo vyšší účinnosti degradace, tak v následujících experimentech byl objem reaktoru snížen na 100 ml. Kvůli snížení objemu reaktoru a relativně velkému ohřevu při použití reaktoru o objemu 200 ml, byly experimenty se 100ml reaktorem chlazeny prostřednictvím ledové lázně.

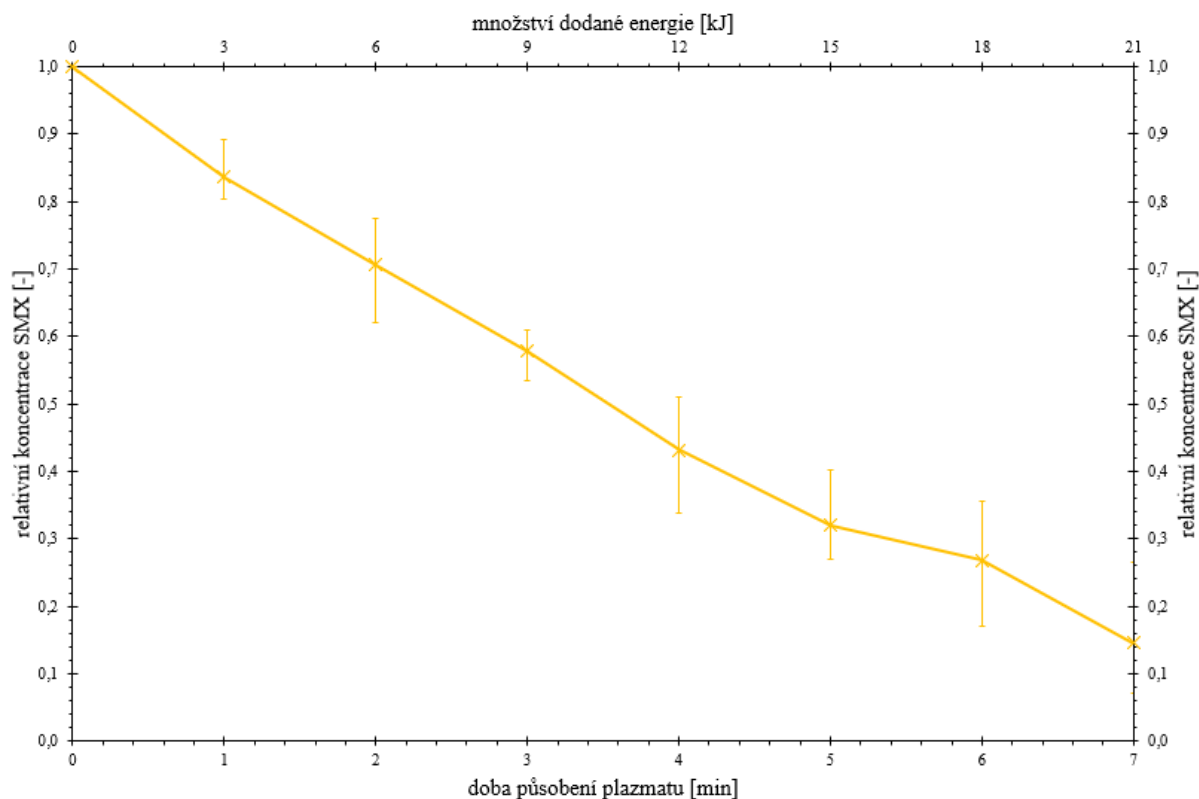
4.2.2 Modelový roztok sulfamethoxazolu v neutrálním prostředí

Připravený modelový roztok sulfamethoxazolu s neutrálním pH byl ošetřován plazmatem. Podmínky, za kterých byl modelový roztok SMX ošetřován plazmatem, časy odběrů, výchozí koncentrace SMX a naměřené hodnoty: teploty, pH a vodivosti roztoku před a po aplikaci plazmatu jsou uvedeny v *tabulce 8*.

Tabulka 8: Sledované parametry a podmínky experimentu degradace SMX v neutrálním prostředí

sledované parametry		před aplikací	po aplikaci	změna parametrů
teplota [°C]		13,8	49,4	+ 35,6
hodnota pH [-]		6,8	5,2	– 1,6
vodivost [μS]		373,7	323,7	– 50,0
podmínky experimentu				
výkon	50 W	polarita hlavní elektrody		kladná (+)
objem reaktoru	100 ml	výchozí koncentrace SMX		1,0 μg/ml
použité chlazení	led	odběry		po 1 minutě (0 až 7 minut)

Graf 5 znázorňuje závislost relativní koncentrace SMX na délce působení plazmatu v neutrálním prostředí, ale také na množství dodané energie vyjádřené v kJ při výkonu generátoru plazmatu 50 W po dobu 7 minut u třech různých měření. Chybové úsečky vyjadřují rozmezí naměřených koncentrací SMX v provedených experimentech.



Graf 5: Závislost relativní koncentrace SMX na délce působení plazmatu (množství dodané energie) v neutrálním prostředí

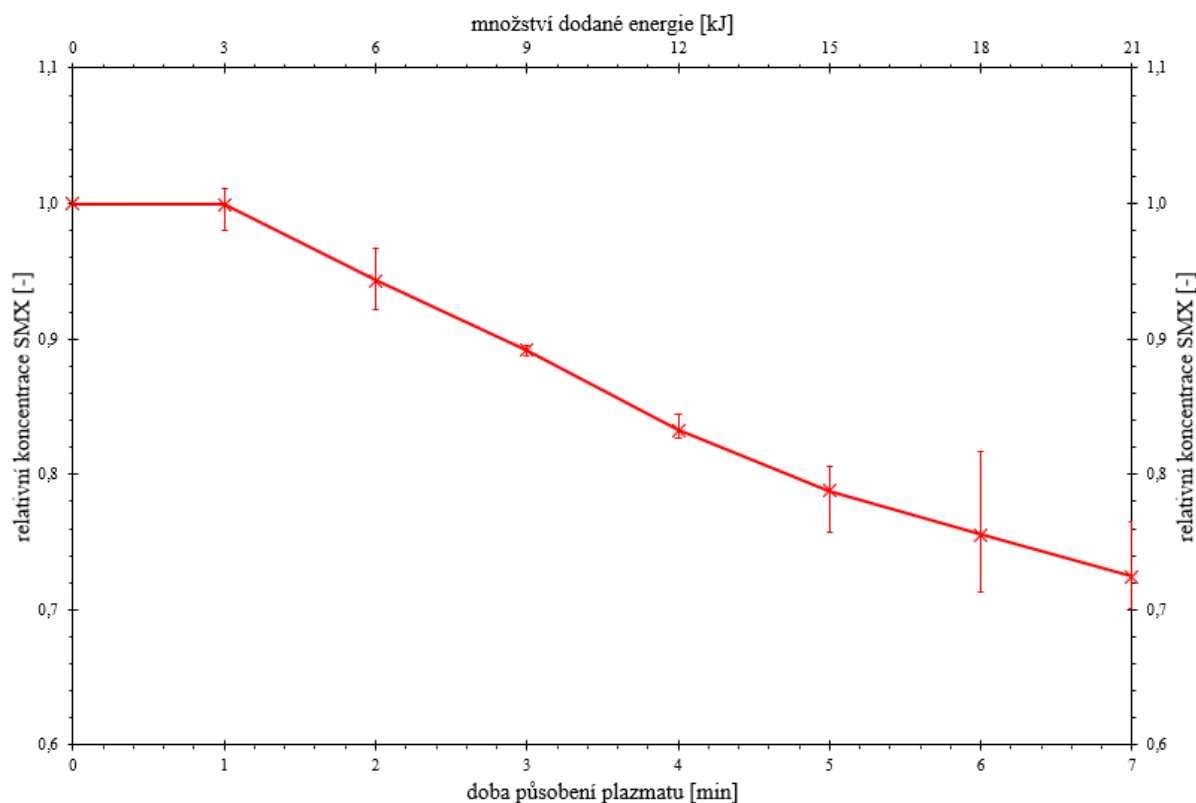
4.2.3 Modelový roztok sulfamethoxazolu v kyselém prostředí

Připravený modelový roztok sulfamethoxazolu s kyselým pH byl ošetřován plazmatem. Podmínky, za kterých byl modelový roztok SMX ošetřován plazmatem, časy odběrů, výchozí koncentrace SMX a naměřené hodnoty: teploty, pH a vodivosti roztoku před a po aplikaci plazmatu jsou uvedeny v *tabulce 9*.

Tabulka 9: Sledované parametry a podmínky experimentu degradace SMX v kyselém prostředí

sledované parametry		před aplikací	po aplikaci	změna parametrů
teplota [°C]		13,4	45,1	+ 31,7
hodnota pH [-]		4,2	4,2	0,0
vodivost [μS]		393,0	282,7	– 110,3
podmínky experimentu				
výkon	50 W	polarita hlavní elektrody		kladná (+)
objem reaktoru	100 ml	výchozí koncentrace SMX		1,3 μg/ml
použité chlazení	led	odběry		po 1 minutě (0 až 7 minut)

Graf 6 znázorňuje závislost relativní koncentrace SMX na délce působení plazmatu v neutrálním prostředí, ale také na množství dodané energie vyjádřené v kJ při výkonu generátoru plazmatu 50 W po dobu 7 minut u třech různých měření. Chybové úsečky vyjadřují rozmezí naměřených koncentrací SMX v provedených experimentech.



Graf 6: Závislost relativní koncentrace SMX na délce působení plazmatu (množství dodané energie) v kyselém prostředí

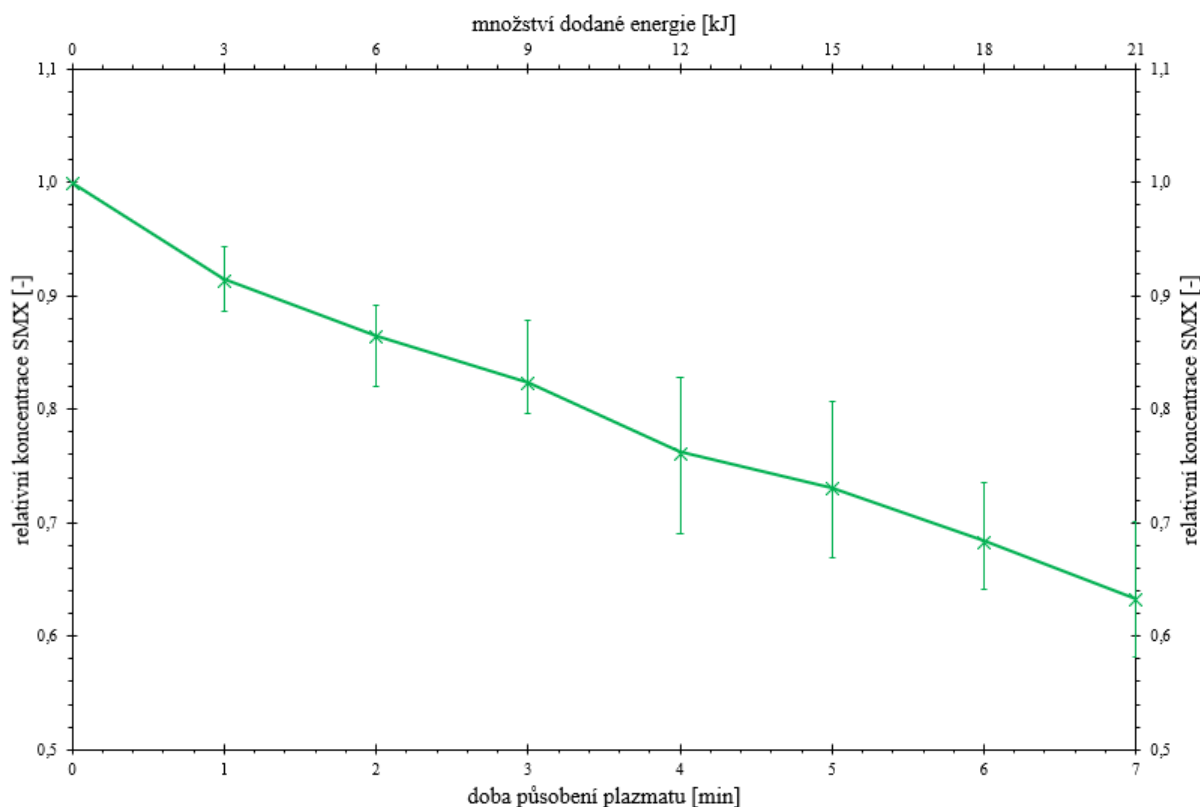
4.2.4 Modelový roztok sulfamethoxazolu v zásaditém prostředí

Připravený modelový roztok sulfamethoxazolu se zásaditým pH byl ošetřován plazmatem. Podmínky, za kterých byl modelový roztok SMX ošetřován plazmatem, časy odběrů, výchozí koncentrace SMX a naměřené hodnoty: teploty, pH a vodivosti roztoku před a po aplikaci plazmatu jsou uvedeny v *tabulce 10*.

Tabulka 10: Sledované parametry a podmínky experimentu degradace SMX v zásaditém prostředí

sledované parametry		před aplikací	po aplikaci	změna parametrů
teplota [°C]		12,7	54,3	+ 41,6
hodnota pH [-]		8,3	7,6	– 0,7
vodivost [μS]		392,0	328,0	– 64,0
podmínky experimentu				
výkon	50 W	polarita hlavní elektrody		kladná (+)
objem reaktoru	100 ml	výchozí koncentrace SMX		1,0 μg/ml
použité chlazení	led	odběry		po 1 minutě (0 až 7 minut)

Graf 7 znázorňuje závislost relativní koncentrace SMX na délce působení plazmatu v neutrálním prostředí, ale také na množství dodané energie vyjádřené v kJ při výkonu generátoru plazmatu 50 W po dobu 7 minut u třech různých měření. Chybové úsečky vyjadřují rozmezí naměřených koncentrací SMX v provedených experimentech.



Graf 7: Závislost relativní koncentrace SMX na délce působení plazmatu (množství dodané energie) v zásaditém prostředí

4.2.5 Vliv prostředí na degradaci sulfamethoxazolu pomocí plazmatu

Získané hodnoty z experimentů odehrávající se v různých prostředích byly zprůměrovány a byly vypočteny jejich směrodatné odchylky za účelem stanovení reprodukovatelnosti dat (viz *Graf 8*). Dále byla stanovena průměrná účinnost odstranění sulfamethoxazolu z připravených roztoků modelových vod (viz *Graf 9*).

Nejvyšší účinnosti degradace sulfamethoxazolu bylo dosaženo v modelových roztocích s neutrálním pH (viz *Graf 8* a *Graf 9*), kdy relativní koncentrace sulfamethoxazolu klesla průměrně na $0,15 \pm 0,09 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ s průměrnou účinností odstranění SMX 85,41 % za 7 minut aplikace plazmatu, což je výrazně vyšší účinnost než bylo dosaženo v zásaditém prostředí ($0,63 \pm 0,05 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ s průměrnou účinností odstranění SMX 36,71 %) a výrazněji než v kyselém prostředí ($0,72 \pm 0,03 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ s průměrnou účinností odstranění SMX 27,55 %). V rámci jednotlivých experimentů bylo dosaženo dobré reprodukovatelnosti, jelikož jsou si relativní koncentrace provedených experimentů blízké.

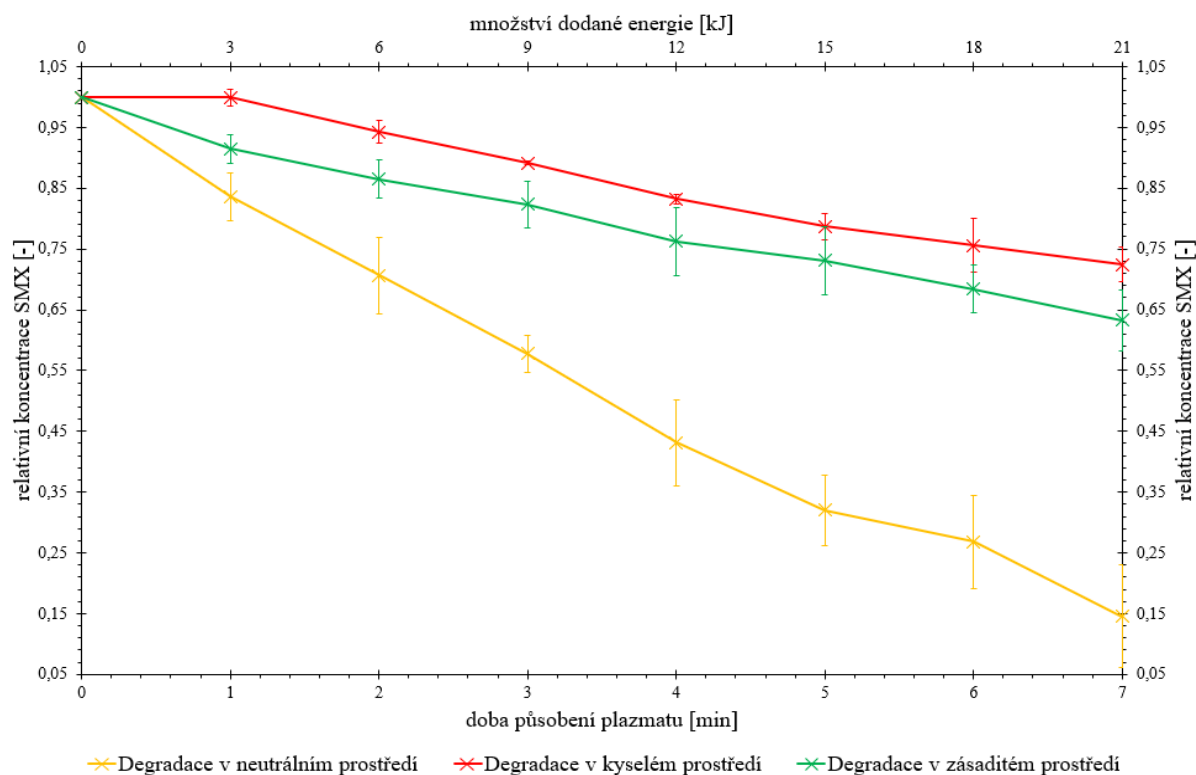
Jelikož degradace sulfamethoxazolu v neutrálním byla nejúčinnější, tak byla také proměřena stabilita odebraného vzorku v čase, tedy jestli nedochází k následné degradaci i po vyjmutí roztoku z generátoru. K další degradaci SMX nedochází a potvrzuje to fakt, že hlavním degradačním činidlem jsou hydroxylové radikály, které mají velmi krátkou dobu života. Ve všech prostředích modelových roztoků docházelo k zahřívání roztoků, ke změně hodnot pH, ale také ke změně vodivosti v různé velké míře.

I přesto, že docházelo k zahřívání roztoků v průběhu aplikace plazmatu, tak by tento jev neměl přispívat k degradaci sulfamethoxazolu, jelikož se jedná o termostabilní látku (až 200 °C podle [82]). I navzdory tomuto faktu byly roztoky chlazeny ledem kvůli možnému vypařování roztoku, a tedy zakonzentrování a ovlivnění naměřených koncentrací sulfamethoxazolu v odebraných vzorcích.

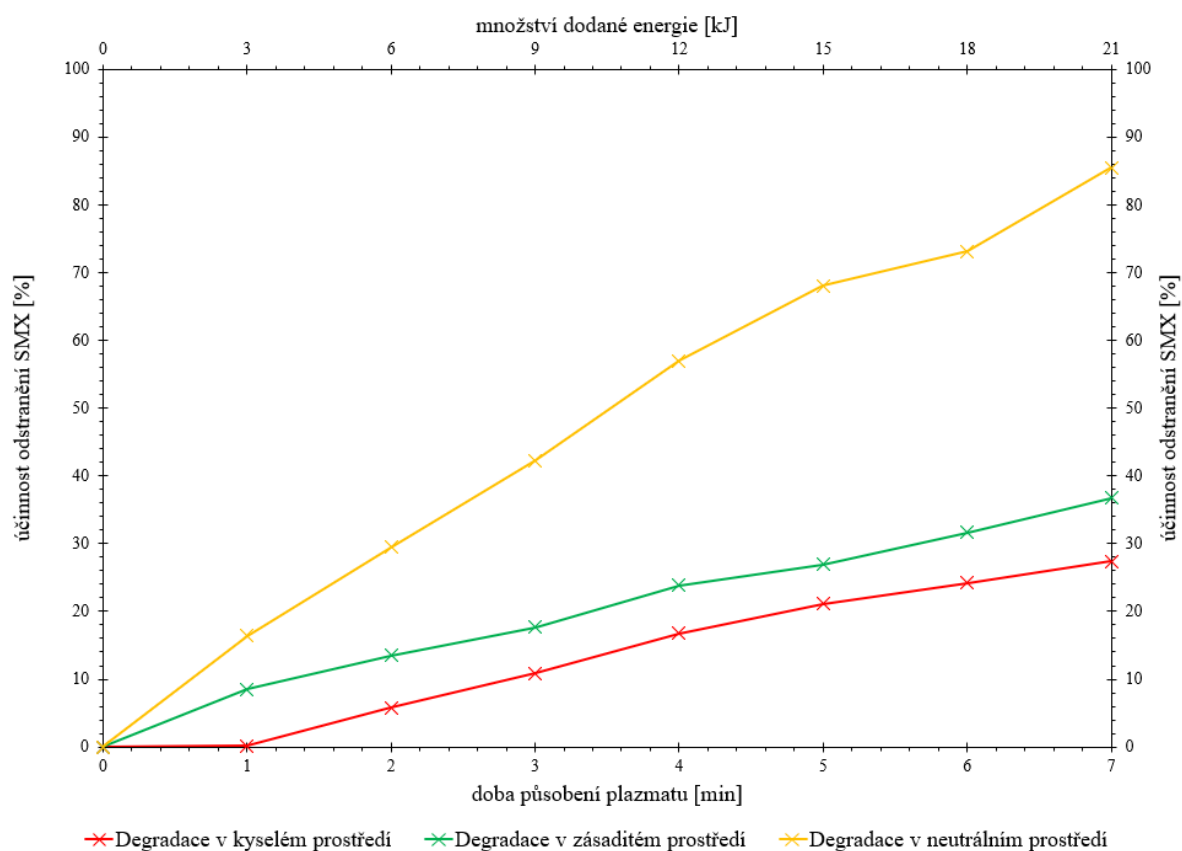
Předpokládá se, že snížení hodnoty pH je způsobeno vznikem slabých organických kyselin jako je kyselina mravenčí, kyselina octová, kyselina šťavelová a anorganických aniontů jako je SO_4^{2-} , NO_3^- a NO_2^- [67]. K největší změně hodnoty pH došlo v neutrálním prostředí ($\Delta\text{pH} = -1,6$), následně v zásaditém ($\Delta\text{pH} = -0,7$) ke změně hodnoty pH vůbec nedošlo v kyselém prostředí. To by odpovídalo naměřeným hodnotám pH, jelikož v neutrálním prostředí, kde byl sulfamethoxazol nejvíce degradován také došlo k nejvýraznější změně hodnoty pH.

Při generování plazmatu také dochází ke změně vodivosti, v našem případě došlo ke snížení vodivosti i navzdory teoretickému vzniku slabých organických kyselin a anorganických iontů. Toto snížení vodivosti může být způsobeno reformací přítomných elektrolytů na méně vodivé.

K objektivnímu posouzení účinnosti a posouzení vhodnosti aplikace plazmatu na degradaci sulfamethoxazolu byly dále vypočteny rychlostní konstanty a energetický výtěžek celého procesu.



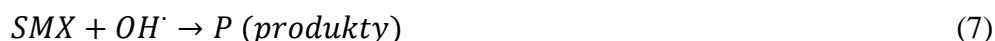
Graf 8: Závislost relativní koncentrace SMX na délce působení plazmatu (množství dodané energie) v různých prostředích



Graf 9: Porovnání vlivu prostředí na účinnost degradace sulfamethoxazolu v modelových roztocích v různých prostředích

4.2.6 Stanovení rychlostní konstanty

Jak již bylo zmíněno v kapitole 2.6.1 existuje celá řada pokročilých oxidačních procesů, které fungují na odlišném principu, ale jejich společným znakem je tvorba volných radikálů a částic, které jsou schopny eliminovat polutanty. Eliminace těchto mikropolutantů probíhá zejména účinkem hydroxylových radikálů (viz Rovnice 7). Tyto degradační reakce, kterými jsou následně mikropolutanty odstraňovány se liší chemickou kinetikou (reakce nultého, **prvního**, druhého a **pseudoprvního řádu**).



V případě tvorby hydroxylových radikálů a dalších částic prostřednictvím generování plazmatického výboje v kapalině, k degradaci polutantů, se považují tyto degradační reakce za reakci prvního (viz [83]) či pseudoprvního řádu (viz [84]), což se v našem případě potvrdilo (viz Graf 10).

Rychlostní rovnicí druhého řádu pro degradaci sulfamethoxazolu je rovnice 8. Reakce pseudoprvního řádu je modifikovaná reakce druhého řádu probíhající za specifických podmínek, kdy je koncentrace jednoho z reaktantů v průběhu reakce konstantní. Hydroxylové radikály v průběhu reakce, tedy v průběhu ošetřování roztoku plazmatem mají konstantní koncentraci, díky své vysoké reaktivitě, krátké době života, a protože se konstantně tvoří nové hydroxylové radikály prostřednictvím generovaného plazmatu (tzn. $[OH]_0 = [OH]$). Z tohoto důvodu je možné tuto reakci experimentálně analyzovat, jako reakci prvního řádu. Námi pozorovaná rychlostní konstanta za zmíněných podmínek, bude mít tvar viz rovnice 9. Rychlostní rovnici pseudoprvního řádu (viz rovnice 10) získáme spojením rovnice 8 a rovnice 9. Zároveň platí pro rovnici 10, že kvůli konstantní koncentraci hydroxylových radikálů, bude přírůstek koncentrace produktů roven úbytku koncentrace SMX [85, 86].

$$\frac{d[P]}{dt} = k \cdot [SMX] \cdot [OH^{\cdot}]_0, \quad (8)$$

kde $d[P]$ je přírůstek koncentrace vznikajících produktů za čas dt , k je rychlostní konstanta, $[SMX]$ je koncentrace sulfamethoxazolu a $[OH^{\cdot}]_0$ je koncentrace hydroxylových radikálů [85].

$$k' = k \cdot [OH^{\cdot}]_0, \quad (9)$$

kde k' je námi pozorovaná rychlostní konstanta pseudoprvního řádu, k je rychlostní konstanta druhého řádu a $[OH^{\cdot}]_0$ je konstantní koncentrace hydroxylových radikálů [85, 86].

$$\frac{d[P]}{dt} = -\frac{d[SMX]}{dt} = k' \cdot [SMX], \quad (10)$$

kde $d[P]$ je přírůstek koncentrace vznikajících produktů za čas dt , $-d[SMX]$ je úbytek koncentrace sulfamethoxazolu za čas dt , k' je námi pozorována rychlostní konstanta a $[SMX]$ je koncentrace sulfamethoxazolu [85, 86].

Následnými matematickými úpravami rovnice 10, včetně integrace získáme postupně rovnici 11 až konečnou rovnici 15, podle které je možné vytvořit závislost $\ln(SMX_0/SMX)$ na čase a tím stanovit rychlostní konstantu pseudoprvního řádu degračního procesu SMX pomocí plazmatu.

$$\frac{d[SMX]}{[SMX]} = -k' \cdot dt, \quad (11)$$

$$\int_{[SMX]_0}^{[SMX]} \frac{d[SMX]}{[SMX]} = \int_{t_0}^t -k' \cdot dt, \quad (12)$$

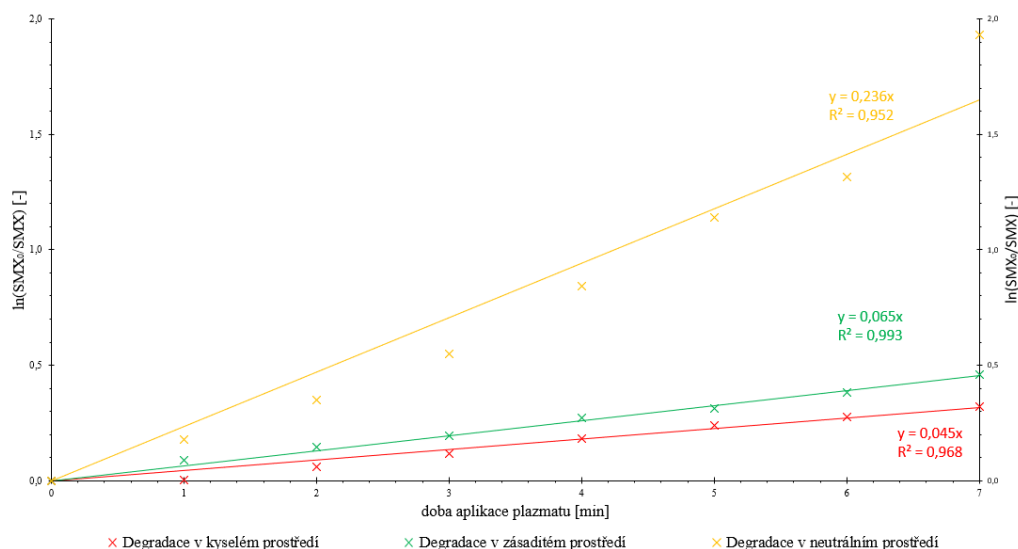
$$\ln[SMX] - \ln[SMX]_0 = -k' \cdot (t - t_0), \quad (13)$$

$$\ln \frac{[SMX]}{[SMX]_0} = -k' \cdot t, \quad (14)$$

$$\ln \frac{[SMX]_0}{[SMX]} = k' \cdot t, \quad (15)$$

kde $[SMX]_0$ je výchozí koncentrace sulfamethoxazolu, $[SMX]$ je koncentrace sulfamethoxazolu v určitém čase t , k' je námi pozorovaná rychlostní konstanta pseudoprvního řádu a t je doba aplikace plazmatu [85, 86].

Reakce je označována jako reakce pseudoprvního řádu, jelikož na rozdíl od reakce prvního řádu je závislost pouze na koncentraci jednoho reaktantu způsobena konstantní koncentrací druhého reaktantu [85, 86].



Graf 10: Závislost $\ln(SMX_0/SMX)$ na čase v různých prostředích

V grafu 10 byla vynesena závislost podle rovnice 15 a byly stanoveny rychlostní konstanty. Rychlostní konstanta pro degradaci sulfamethoxazolu v neutrálním prostředí je $0,236 \text{ min}^{-1}$ ($R^2 = 0,952$), při degradaci sulfamethoxazolu v zásaditém prostředí $0,065 \text{ min}^{-1}$ ($R^2 = 0,993$) a při degradaci sulfamethoxazolu v kyselém prostředí $0,045 \text{ min}^{-1}$ ($R^2 = 0,968$). Tyto rychlostní konstanty potvrzují, že degradace v neutrálním prostředí byla několikanásobně efektivnější než v ostatních prostředích, a tedy rychlejší než v zásaditém a kyselém prostředí.

4.2.6.1 Porovnání AOP prostřednictvím rychlostních konstant

Tabulka 11: Srovnání pokročilých oxidačních procesů pomocí rychlostních konstant (pouze pseudoprvního a prvního řádu)

označení procesu	katalyzátor				objem reaktoru [ml]	t ₅₀ % [min]	k [min ⁻¹]	zdroj
UV/H ₂ O ₂	UV lampa 450 W	H ₂ O ₂	0,00 mM	150	1,06	0,660	[87]	
UV/H ₂ O ₂			0,29 mM	150	0,64	1,080		
UV/H ₂ O ₂			1,47 mM	150	0,53	1,320		
UV	Xenonová lampa 500 W	pozn. simulace denního světla		100	49,43	0,018	[88]	
UV	Xenonová lampa 1 kW	bez dalšího katalyzátoru		100	22,62	0,029	[89]	
UV/AGP		AGP	0,05 g·L ⁻¹	100	4,63	0,217		
UV/AGP-G		AGP-G	0,05 g·L ⁻¹	100	8,10	0,095		
UV/AAGP-G		AAGP-G	0,05 g·L ⁻¹	100	6,01	0,095		
UV/W-P25(T)	Xenonová lampa 100 W	W-P25(T)	0,25 g·L ⁻¹	150	14,78	0,046	[90]	
UV/TiO ₂	UV lampa 450 W	TiO ₂	0,10 g·L ⁻¹	250	2,26	0,360	[91]	
DBD plazma	DBD plazma 6,8 W	vzduch	5,00 mg·L ⁻¹	1 000	6,83	0,125	[92]	
DBD plazma	DBD plazma 6,8 W	vzduch	1,00 L·min ⁻¹	1 000	8,03	0,093	[93]	
O ₃	O ₃	1,00 mg·L ⁻¹	bez dalšího katalyzátoru		3 000	doba ozonace neznámá	0,003	[94]
O ₃		2,10 mg·L ⁻¹			3 000	doba ozonace neznámá	0,006	
O ₃		3,30 mg·L ⁻¹			3 000	doba ozonace neznámá	0,010	
O ₃		1,00 mg·L ⁻¹	NaHCO ₃	5,00 mM	3 000	doba ozonace neznámá	0,004	
Fe ⁰ /S(IV)/O ₂	Fe	1,00 mM	NaHSO ₃	0,10 g·L ⁻¹	500	27,44	0,025	[95]
plazma	plazma 50 W	NaCl	0,18 g·L ⁻¹	100	3,54	0,236	Tato práce	
plazma		CH ₃ COOH	3,525 μM	100	nedosaženo 50% degradace	0,045		
plazma		Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0,60 g·L ⁻¹	100	nedosaženo 50% degradace	0,065		

V *tabulce 11* je provedeno srovnání různých pokročilých oxidačních procesů, včetně zástupce dalšího generátoru plazmatu (DBD plazma - dielektrický bariérový výboj) pomocí rychlostních konstant. Aby bylo možné porovnat tyto procesy, tak byly dohledány studie, které prováděly experimenty v deionizované vodě, jelikož odpadní vody a směsi několika látek snižují rychlostní konstantu a celkovou účinnost degradačního procesu. Jelikož rychlostní konstanta je ovlivněna počáteční koncentrací polutantu, v našem případě koncentrací sulfamethoxazolu, tak byly použity pouze studie s výchozí koncentrací 1,0 až 1,55 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ nebo ty ze kterých bylo možné stanovit rychlostní konstantu z přiložených grafů (vyšší hodnota počáteční koncentrace snižuje velikost rychlostní konstanty, a naopak nižší počáteční koncentrace zvyšuje velikost rychlostní konstanty). Aby bylo možné provést jednoduše porovnání účinnosti těchto procesů, tak výše uvedené AOP mají pseudoprvní řád reakce, popřípadě první řád reakce, jelikož mají stejnou jednotku rychlostní konstanty. Dále byly stanoveny časy, za které bylo degradováno 50 % z výchozí koncentrace SMX, jelikož jednotlivé studie aplikovaly procesy do různého stupně odstranění SMX.

V našem případě nebylo možné stanovit čas, za který bylo degradováno 50 % z výchozí koncentrace SMX v kyselém a zásaditém prostředí, jelikož během 7 minut ošetřování roztoku plazmatem nebylo dosaženo dostatečné účinnosti. V případě modelového roztoku s neutrálním pH bylo 50% degradace dosaženo již po 3,54 minutách.

V případě že srovnáme rychlostní konstanty ostatních AOP s našim experimentem modelové vody s neutrálním pH, tak zjistíme, že náš proces byl velmi účinný. S hodnotou rychlostní konstanty $k = 0,236 \text{ min}^{-1}$, dosáhly vyšší rychlostní konstanty pouze experimenty s UV/H₂O₂ viz [87] a s UV/TiO₂ viz [91]. V porovnání s články [92] a [93] zabývajících se plazmatem s odlišnou konfigurací (DBD plazma: $k = 0,125 \text{ min}^{-1}$ a ve druhém článku $k = 0,093 \text{ min}^{-1}$) byla naše stanovená rychlostní konstanta též výrazně vyšší.

Je nutné ale poznamenat, že velikost rychlostní konstanty v generátoru plazmatického výboje, je také s největší pravděpodobností ovlivněna velikostí reaktoru (v našem případě 100 ml). V případě většího reaktoru by rychlostní konstanta dosáhla nižší hodnoty, jelikož množství generovaných hydroxylových radikálů závisí na velikosti dodané energie a ve větším reaktoru by docházelo k menší **relativní** degradaci sulfamethoxazolu. Tímto jevem může být také ovlivněna velikost rychlostní konstanty v případě užití UV a xenonové lampy k degradaci sulfamethoxazolu. Ostatní AOP tímto problémem nejsou zatíženy, jelikož jsou využívány chemikálie, kterých v případě větších reaktorů je nadávkováno větší množství.

Výhodou generátoru plazmatu je nízká spotřeba elektrické energie (50 W) oproti UV lampám (450 W) a Xenonovým lampám (500 W a 1 kW) (viz *Tabulka 11*). Mezi další výhodou patří nepotřebnost přidávat další katalyzátory, kromě elektrolytů na upravení konduktivity (v případě pitné či odpadní vody by bylo potřebné vodivosti dosaženo bez přidání elektrolytů). Nevýhodou procesů, které dávají k degradaci SMX O₃ je nutnost odstranění tohoto přebytkového, nezreagovaného O₃. Největší nevýhodou našeho systému je omezená operační doba wolframové elektrody v kompaktní keramické hlavici, jelikož po několika hodinách provozu dochází nejprve k narušení keramického materiálu v okolí elektrody a následně k rozprášení wolframového drátu.

4.2.7 Porovnání účinnosti degradace sulfamethoxazolu v generátorech plazmatu

V případě užití plazmatu k degradaci polutantů je k porovnání jednotlivých systémů využíván především energetický výtěžek, ten byl vypočítán po vzoru článku [96] zabývající se degradací polutantů pomocí plazmatu. Energetický výtěžek (viz rovnice 11) je vyjádřen jako množství degradovaného sulfamethoxazolu v mg na 1 kWh elektrické energie.

$$Y = \frac{C_0 \cdot V \cdot \eta}{P \cdot t} [mg \cdot kWh^{-1}], \quad (11)$$

kde C_0 je výchozí koncentrace sulfamethoxazolu v $mg \cdot L^{-1}$, V je objem reaktoru v litrech, η je účinnost degradace v %, P je průměrný výkon v kW a t je čas degradace v hodinách [96].

Tabulka 12: Účinnosti degradace a energetické výtěžky při výchozí koncentraci $1 \mu g \cdot ml^{-1}$

čas	neutrální prostředí		kyselé prostředí		zásadité prostředí	
t [min]	účinnost degradace [%]	Y [mg·kWh ⁻¹]	účinnost degradace [%]	Y [mg·kWh ⁻¹]	účinnost degradace [%]	Y [mg·kWh ⁻¹]
1	16,4	19,7	0,1	0,2	8,5	10,3
2	29,5	17,7	5,8	3,5	13,5	8,1
3	42,3	16,9	10,8	4,3	17,6	7,1
4	57,0	17,1	16,7	5,0	23,8	7,1
5	68,0	16,3	21,2	5,1	27,0	6,5
6	73,1	14,6	24,2	4,8	31,6	6,3
7	85,5	14,7	27,4	4,7	36,7	6,3

Tabulka 13: Účinnosti degradace a energetické výtěžky při výchozí koncentraci $1 \mu g \cdot ml^{-1}$ [92, 93]

čas	DBD plazma [92]		DBD plazma [93]	
t [min]	účinnost degradace [%]	Y [mg·kWh ⁻¹]	účinnost degradace [%]	Y [mg·kWh ⁻¹]
1	9,8	11,8	8,3	10,0
2	17,6	10,6	15,3	9,2
3	24,9	10,0	22,0	8,8
4	31,8	9,5	28,3	8,5
5	38,2	9,2	34,4	8,3
6	44,2	8,8	40,2	8,0
7	49,7	8,5	45,7	7,8
8	54,9	8,2	51,0	7,6
9	59,7	8,0	55,9	7,5

Hodnota energetického výtěžku se snižuje s klesající koncentrací přítomného SMX v reaktoru (viz Tabulka 12 a Tabulka 13), tak jako celková rychlost reakce. Porovnání energetického výtěžku dopadlo obdobně jako porovnání rychlostních konstant pro degradaci SMX v námi použitém generátoru: v případě modelové vody s neutrálním pH bylo dosaženo lepších výsledků, v případě zásaditého pH jsou výsledky srovnatelné a v případě kyselého pH jsou výsledky výrazněji horší než dosažené výsledky v nalezených člancích [92] a [93] zabývajících se degradací SMX pomocí plazmatu.

5 ZÁVĚR

V rámci bakalářské práce byla zpracována problematika degradace sulfonamidových antibiotik pomocí pokročilých oxidačních procesů. Jako vhodný analyt pro modelové vody byl vybrán sulfamethoxazol, jakožto nejpoužívanější zástupce sulfonamidových antibiotik v ČR. Jako vhodná analytická metoda pro stanovení sulfamethoxazolu v odebraných vzorcích ošetřených plazmatem byla zvolena metoda LC-ESI-MS. K degradaci sulfamethoxazolu byl využit generátor plazmatu, který je zástupcem pokročilých oxidačních procesů.

V rámci experimentální práce byl nejdříve posouzen vliv zapojení hlavní elektrody a následně vliv prostředí (neutrální, kyselé a zásadité) na účinnost degradace sulfamethoxazolu. Nejvyšší účinnosti odstranění sulfamethoxazolu bylo dosaženo při zapojení hlavní wolframové elektrody na kladnou polaritu v neutrálním prostředí.

Za účelem posouzení vhodnosti aplikace plazmatu na odstranění sulfamethoxazolu byly vypočteny rychlostní konstanty reakce SMX s hydroxylovými radikály v jednotlivých prostředích. Vypočítané rychlostní konstanty byly porovnány s vědeckými studiemi zabývající se degradací sulfamethoxazolu pomocí odlišných pokročilých oxidačních procesů, ale i pomocí plazmatu. Také byl stanoven energetický výtěžek degradace SMX ($\text{mg} \cdot \text{kWh}^{-1}$) a byl porovnán se studiemi týkající se aplikace plazmatu. V těchto srovnáních si generátor plazmatu užívaný na naší fakultě vedl relativně dobře.

Aplikace plazmatu na degradaci sulfamethoxazolu a případně dalších polutantů v odpaních vodách má jistý potenciál, ale je nutné provést další experimenty. Tyto experimenty by se mohly týkat rozdílného výkonu generátoru, dalších polutantů či směsí několika látek případně aplikace na reálné odpadní vody.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ŠÍDLOVÁ, Petra, Radka PODLIPNÁ a Tomáš VANĚK. CYTOSTATICKÁ LÉČIVA V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ. Chemické listy [online]. 2011, (105), 8-14 [cit. 2019-03-23]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_01_8-14.pdf
- [2] Seznam sledovaných látek pro monitorování v rámci celé Unie stanovený v článku 8b směrnice 2008/105/ES. Úřední věstník Evropské unie [online]. Evropská Unie, 2015, , 3 [cit. 2019-03-24]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015D0495&from=EN>
- [3] KOŽÍŠEK, František a Petr PUMANN. Léčiva v pitné vodě a vliv médií. Envigogika [online]. 2013, 8(3) [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.14712/18023061.388. ISSN 1802-3061. Dostupné z: <http://www.envigogika.cuni.cz/index.php/Envigogika/article/view/388>
- [4] MARTINEZ, Jose Luis. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. Environmental Pollution[online]. 2009, 157(11), 2893-2902 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.envpol.2009.05.051. ISSN 02697491. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749109002942>
- [5] FRONTIERS 2017: EMERGING ISSUES OF ENVIRONMENTAL CONCERN. United Nations Environment Programme, 2017. ISBN 978-92-807-3664-9.
- [6] DEBLONDE, Tiphane, Carole COSSU-LEGUILLE a Philippe HARTEMANN. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. International Journal of Hygiene and Environmental Health [online]. 2011, 214(6), 442-448 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.ijheh.2011.08.002. ISSN 14384639. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438463911001325>
- [7] JAN BINDZAR A KOLEKTIV. Základy úpravy a čištění vod. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009. ISBN 978-807-0807-293.
- [8] STUETZ, Richard, STEPHENSON, Tom, ed. Principles of Water and Wastewater Treatment processes. 1. London: IWA Publishing, 2009. ISBN 978-1843390268.
- [9] MACSEK, T.; ŠVESTKOVÁ, T.; ÚTERSKÝ, M.; LANDOVÁ, P.; HLAVÍNEK, P.; VÁVROVÁ, M. Removal of pharmaceuticals from drinking water matrix in a flow-through AOPs reactor. In 15th International Conference on Environmental Science and Technology. Proceedings of the International Conference on Environmental Science and Technology. Athens, Greece: International Conference on Environmental Science and Technology, 2017. s. 1-5. ISBN: 978-960-7475-53- 4. ISSN: 1106-5516.
- [10] DEHGHANI, Mansooreh, Simin NASSERI, Mohammad AHMADI, Mohammad SAMAEI a Amir ANUSHIRAVANI. Removal of penicillin G from aqueous phase by Fe 3-TiO2/UV-A process. Journal of Environmental Health Science and Engineering [online]. 2014, 12(1) [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1186/2052-336X-12-56. ISSN 2052-336X. Dostupné z: <http://jehse.biomedcentral.com/articles/10.1186/2052-336X-12-56>

- [11] NORZAE, Samira, Edris BAZRAFESHAN, Babak DJAHED, Ferdos KORD MOSTAFAPOUR a Razieh KHAKSEFIDI. UV Activation of Persulfate for Removal of Penicillin G Antibiotics in Aqueous Solution. The Scientific World Journal [online]. 2017, 2017, 1-6 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1155/2017/3519487. ISSN 2356-6140. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2017/3519487/>
- [12] Dodávky léčiv se zaměřením na léčivé látky (rok 2018). SÚKL - Státní ústav pro kontrolu léčiv [online]. [cit. 2019-03-22]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/rok-2018>
- [13] Drinking Water Contaminants of Emerging Concern Program: Sulfonamide Antibiotics and Drinking Water. Minnesota Department of Health, 2013. Dostupné také z: <https://www.health.state.mn.us/communities/environment/risk/docs/guidance/gw/sulfamethinfosht.pdf>
- [14] DARKO, Godfred, Lawrence Sheringham BORQUAYE, Akwasi ACHEAMPONG, Kwasi OPPONG a Raul BERNARDINO. Veterinary antibiotics in dairy products from Kumasi, Ghana. Cogent Chemistry [online]. 2017, 3(1) [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.1080/23312009.2017.1343636. ISSN 2331-2009. Dostupné z: <https://www.cogentia.com/article/10.1080/23312009.2017.1343636>
- [15] HUANG, Da-Ji, Jung-Hsin HOU, Tzong-Fu KUO a Hong-Thih LAI. Toxicity of the veterinary sulfonamide antibiotic sulfamonomethoxine to five aquatic organisms. Environmental Toxicology and Pharmacology [online]. 2014, 38(3), 874-880 [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.1016/j.etap.2014.09.006. ISSN 13826689. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1382668914002130>
- [16] Hruska, Karel & Fránek, Milan. (2012). Sulfonamides in the environment: A review and a case report. Veterinarni Medicina. 57. 10.17221/4969-VETMED.
- [17] HAMPL, František, Stanislav RÁDL a Jaroslav PALEČEK. Farmakochemie. 3., upravené a rozšířené vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2015. ISBN 978-80-7080-875-7.
- [18] ŠVIHOVEC, Jan, Jan BULTAS, Pavel ANZENBACHER, Jaroslav CHLÁDEK, Jan PŘÍBORSKÝ, Jiří SLÍVA a Martin VOTAVA, ed. Farmakologie[online]. Praha: Grada Publishing, 2018 [cit. 2019-03-22]. ISBN 978-80-247-5558-8.
- [19] KVĚTINA, Jaroslav, Josef HERINK a Marie VOPRŠALOVÁ. Farmakologie pro farmaceuty. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2003. ISBN 80-7305-457-4.
- [20] TREVOR, Anthony J., Bertram G. KATZUNG a Susan B. MASTERS. 8th ed. by Anthony J. Trevor, Bertram G. Katzung, Susan Masters. New York: McGraw Hill Medical, c2008. ISBN 978-0071488693.
- [21] BENTLEY, Ronald a J.W BENNETT. What Is an Antibiotic? Revisited [online]. Elsevier, 2003, 2003, , 303-331 [cit. 2019-03-22]. Advances in Applied Microbiology. DOI: 10.1016/S0065-2164(03)01012-8. ISBN 9780120026548. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065216403010128>
- [22] LÜLLMANN, Heinz, Klaus MOHR a Lutz HEIN. Barevný atlas farmakologie. Vyd. 4., české. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3908-3.
- [23] Havlík, J. (2003). Současné možnosti -starších- antibiotik v terapeutické praxi. Klin Farmakol Farm, 17(3), 183-185

- [24] Prasad Chakraborty, Subhankari & Pramanik, Panchanan & Roy, Somenath. (2012). A review on emergence of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* and role of chitosan nanoparticle in drug delivery. *Int J Life Sci Pharma Res.* 2.
- [25] BÉAHDY, János. Recent Developments of Antibiotic Research and Classification of Antibiotics According to Chemical Structure. *Advances in Applied Microbiology* Volume 18 [online]. Elsevier, 1974, 1974, , 309-406 [cit. 2019-03-22]. *Advances in Applied Microbiology*. DOI: 10.1016/S0065-2164(08)70573-2. ISBN 9780120026180. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065216408705732>
- [26] Etebu, Ebimieowei & Arikekpar, Ibemologi. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research.* 4. 90-101.
- [27] Tačić, Ana & Nikolic, Vesna & Nikolic, Ljubisa & Savic, Ivan. (2017). Antimicrobial sulfonamide drugs. *Advanced technologies.* 6. 58-71. 10.5937/savteh1701058T.
- [28] BARAN, Wojciech, Ewa ADAMEK, Justyna ZIEMIAŃSKA a Andrzej SOBCZAK. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2011, 196, 1-15 [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.08.082. ISSN 03043894. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389411011010>
- [29] *Infectious Diseases* [online]. Elsevier, 2017 [cit. 2019-03-22]. ISBN 9780702062858. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780702062858001507>
- [30] Sulfamethoxazole. *Drug bank* [online]. [cit. 2019-03-22]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01015>
- [31] GARCÍA-GALÁN, M^a Jesús, M. SILVIA DÍAZ-CRUZ a Damià BARCELÓ. Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2008, 27(11), 1008-1022 [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.1016/j.trac.2008.10.001. ISSN 01659936. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993608002112>
- [32] SUZUKI, Satoru a Phan Thi Phuong HOA. Distribution of Quinolones, Sulfonamides, Tetracyclines in Aquatic Environment and Antibiotic Resistance in Indochina. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2012, 3 [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00067. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2012.00067/abstract>
- [33] DORN, Joshua M. a Gerald W. VOLCHECK. Sulfonamide Drug Allergy. *Drug Allergy Testing* [online]. Elsevier, 2018, 2018, , 145-156 [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.1016/B978-0-323-48551-7.00014-6. ISBN 9780323485517. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323485517000146>
- [34] SMITH, Connie L. a Keith R. POWELL. Review of the Sulfonamides and Trimethoprim. *Pediatrics in Review* [online]. 2000, 21(11), 368-371 [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.1542/pir.21-11-368. ISSN 0191-9601. Dostupné z: <http://pedsinreview.aappublications.org/lookup/doi/10.1542/pir.21-11-368>

- [35] MASTERS, Philip A., Thomas A. O'BRYAN, John ZURLO, Debra Q. MILLER a Nirmal JOSHI. Trimethoprim-Sulfamethoxazole Revisited. Archives of Internal Medicine [online]. 2003, 163(4) [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.1001/archinte.163.4.402. ISSN 0003-9926. Dostupné z: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.163.4.402>
- [36] GALÁN, María Jesús García, M. Silvia DÍAZ-CRUZ a Damià BARCELÓ. Sulfonamide Antibiotics in Natural and Treated Waters: Environmental and Human Health Risks. Emerging Organic Contaminants and Human Health [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012, 2012-1-14, , 71-92 [cit. 2019-03-22]. The Handbook of Environmental Chemistry. DOI: 10.1007/698_2011_129. ISBN 978-3-642-28131-0. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/698_2011_129
- [37] Úřední věstník Evropské unie: Právní předpisy. In: . Brusel: European Communities, 2018, ročník 61, číslo 141. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2018:141:FULL&from=EN>
- [38] Strategický přístup Evropské unie k léčivým přípravkům v životním prostředí. Brusel, 2019. Dostupné také z: <https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2019/CS/COM-2019-128-F1-CS-MAIN-PART-1.PDF>
- [39] GASPERI, J, S GARNAUD, V ROCHER a R MOILLERON. Priority pollutants in wastewater and combined sewer overflow. Science of The Total Environment [online]. 2008, 407(1), 263-272 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.08.015. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969708008267>
- [40] KURT, Ayse, Berna Kiril MERT, Nihan ÖZENGİN, Özge SIVRIOĞLU a Taner YONAR. Treatment of Antibiotics in Wastewater Using Advanced Oxidation Processes (AOPs). Physico-Chemical Wastewater Treatment and Resource Recovery [online]. InTech, 2017, 2017-05-03 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.5772/67538. ISBN 978-953-51-3129-8. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/physico-chemical-wastewater-treatment-and-resource-recovery/treatment-of-antibiotics-in-wastewater-using-advanced-oxidation-processes-aops->
- [41] DENG, Yang a Renzun ZHAO. Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment. Current Pollution Reports [online]. 2015, 1(3), 167-176 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1007/s40726-015-0015-z. ISSN 2198-6592. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s40726-015-0015-z>
- [42] Beneš J.: Pokročilé oxidační procesy - AOP. Sborník konference Pitná voda 2008, s. 135-140. W&ET Team, Č. Budějovice 2008. ISBN 978-80-254-2034-8
- [43] FABIAŃSKA, Aleksandra, Anna BIAŁK-BIELIŃSKA, Piotr STEPŃOWSKI, Stefan STOLTE a Ewa Maria SIEDLECKA. Electrochemical degradation of sulfonamides at BDD electrode: Kinetics, reaction pathway and eco-toxicity evaluation. Journal of Hazardous Materials [online]. 2014, 280, 579-587 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.08.050. ISSN 03043894. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389414007134>

- [44] KOPRIVANAC, Natalija a Hroje KUSIC. AOP as an effective tool for the minimization of hazardous organic pollutants in colored wastewater ; chemical and photochemical processes. Hazardous materials and wastewater: treatment, removal and analysis. New York: Nova Science Publishers, c2007, s. 149-199. ISBN 1-60021-257-3.
- [45] KOZÁKOVÁ, Zdenka, František KRČMA, Michal VAŠÍČEK, Lucie HLAVATÁ a Lenka HLOCHOVÁ. Generation of dc pin-hole discharges in liquids: comparison of discharge breakdown in diaphragm and capillary configuration. The European Physical Journal D [online]. 2015, 69(4) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1140/epjd/e2015-50331-6. ISSN 1434-6060. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1140/epjd/e2015-50331-6>
- [46] MALIK, Muhammad Arif, Abdul GHAFAR a Salman Akbar MALIK. Water purification by electrical discharges. Plasma Sources Science and Technology [online]. 2001, 10(1), 82-91 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1088/0963-0252/10/1/311. ISSN 0963-0252. Dostupné z: <http://stacks.iop.org/0963-0252/10/i=1/a=311?key=crossref.c7c482e5bb00b582d51382d67603f310>
- [47] BRUGGEMAN, Peter a Daan C SCHRAM. On OH production in water containing atmospheric pressure plasmas. Plasma Sources Science and Technology [online]. 2010, 19(4) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1088/0963-0252/19/4/045025. ISSN 0963-0252. Dostupné z: <http://stacks.iop.org/0963-0252/19/i=4/a=045025?key=crossref.ba0ff4c23aee1d10a4843227487591da>
- [48] KULHÁNEK, Petr. Úvod do teorie plazmatu. Praha: AGA, 2011. ISBN 978-80904582-2-2.
- [49] MAKABE, Toshiaki a Zoran LJ. PETROVIC. Plasma Electronics: Applications in Microelectronic Device Fabrication: Series in Plasma Physics. 2, ilustrované vydání. Boca Raton: CRC Press, 2014. ISBN 9781482222104.
- [50] GODYAK, V.A. a N. STERNBERG. Smooth plasma-sheath transition in a hydrodynamic model. IEEE Transactions on Plasma Science[online]. 18(1), 159-168 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1109/27.45519. ISSN 00933813. Dostupné z: <http://ieeexplore.ieee.org/document/45519/>
- [51] Kubinova, Sarka & Drahošová, Michala & Bezděk, Daniel & Churpita, Oleksandr & Musil, Radek & Hanzálek, Tomáš & Soldánová, Martina & Berka, Pavel & Dejneka, Alexandr. (2016). NÍZKOTEPLTNÍ PLAZMA VE VETERINÁRNÍ MEDICÍNĚ – KAZUISTIKY NON-THERMAL PLASMA IN VETERINARY MEDICINE – CASE STUDIES. Veterinární lékař. 14. 75-81.
- [52] K. CHU, Paul a XinPei LU. Low Temperature Plasma Technology: Methods and Applications. Ilustrované vydání. Boca Raton: CRC Press, 2013. ISBN 9781466509917.
- [53] MARTIŠOVITŠ, Viktor. Základy fyziky plazmy: učebný text pre magisterské štúdium. Bratislava: Vydavateľstvo UK, 2006. ISBN 80-223-1983-X.
- [54] VAN DURME, Jim, Jo DEWULF, Christophe LEYS a Herman VAN LANGENHOVE. Combining non-thermal plasma with heterogeneous catalysis in waste gas treatment: A review. Applied Catalysis B: Environmental [online]. 2008, 78(3-4), 324-333 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.apcatb.2007.09.035. ISSN 09263373. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926337307003037>

- [55] LAROUSSE, Mounir. Low Temperature Plasma-Based Sterilization: Overview and State-of-the-Art. *Plasma Processes and Polymers*[online]. 2005, 2(5), 391-400 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1002/ppap.200400078. ISSN 1612-8850. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ppap.200400078>
- [56] MAGUREANU, M., D. PIROI, N.B. MANDACHE, V. DAVID, A. MEDVEDOVICI, C. BRADU a V.I. PARVULESCU. Degradation of antibiotics in water by non-thermal plasma treatment. *Water Research* [online]. 2011, 45(11), 3407-3416 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.watres.2011.03.057. ISSN 00431354. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135411001758>
- [57] KOZÁKOVÁ, Zdenka. *Chempoint* [online]. 2011 [cit. 2019-03-04]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/elektricke-vyboje-v-kapalinach>
- [58] THAGARD, Selma Mededovic, Kazunori TAKASHIMA a Akira MIZUNO. Plasma Chemistry in Pulsed Electrical Discharge in Liquid. *Transactions of the Materials Research Society of Japan* [online]. 2009, 34(2), 257-262 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.14723/tmrj.34.257. ISSN 1382-3469. Dostupné z: https://www.jstage.jst.go.jp/article/tmrj/34/2/34_257/_article/-char/ja/
- [59] UAMRAN, Duaa A. Simulations of the Propagation of Streamers in Electrical Discharges in a 5mm Water Filled Gap [online]. 2017, 9(4) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.19080/CTBEB.2017.09.555767. ISSN 25721151. Dostupné z: <https://juniperpublishers.com/ctbeb/CTBEB.MS.ID.555767.php>
- [60] ŠUNKA, Pavel. Pulse electrical discharges in water and their applications. *Physics of Plasmas* [online]. 2001, 8(5), 2587-2594 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1063/1.1356742. ISSN 1070-664X. Dostupné z: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1356742>
- [61] VANRAES, Patrick, Anton Y. NIKIFOROV a Christophe LEYS. Electrical Discharge in Water Treatment Technology for Micropollutant Decomposition. *Plasma Science and Technology - Progress in Physical States and Chemical Reactions* [online]. InTech, 2016, 2016-04-20 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.5772/61830. ISBN 978-953-51-2280-7. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/plasma-science-and-technology-progress-in-physical-states-and-chemical-reactions/electrical-discharge-in-water-treatment-technology-for-micropollutant-decomposition>
- [62] KRČMA, F, Z KOZÁKOVÁ, V MAZÁNKOVÁ, J HORÁK, L DOSTÁL, B OBRADOVIĆ, A NIKIFOROV a T BELMONTE. Characterization of novel pin-hole based plasma source for generation of discharge in liquids supplied by DC non-pulsing voltage. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2018, 27(6) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1088/1361-6595/aac521. ISSN 1361-6595. Dostupné z: <http://stacks.iop.org/0963-0252/27/i=6/a=065001?key=crossref.c051e7edf7c4a5b3a960e3e6ed6ca44d>
- [63] ZHUANG, Jie, Anbang SUN a Chao HUO. Formation mechanism of streamer discharges in liquids: a review. *High Voltage* [online]. 2016, 1(2), 74-80 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1049/hve.2016.0016. ISSN 2397-7264. Dostupné z: <https://digital-library.theiet.org/content/journals/10.1049/hve.2016.0016>

- [64] BRUGGEMAN, P J, M J KUSHNER, B R LOCKE, et al. Plasma–liquid interactions: a review and roadmap. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2016, 25(5) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1088/0963-0252/25/5/053002. ISSN 1361-6595. Dostupné z: <http://stacks.iop.org/0963-0252/25/i=5/a=053002?key=crossref.8490978588aa1069ee57bfd0198fc461>
- [65] QIAN, J., R. P. JOSHI, J. KOLB, et al. Microbubble-based model analysis of liquid breakdown initiation by a submicrosecond pulse. *Journal of Applied Physics* [online]. 2005, 97(11) [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1063/1.1921338. ISSN 0021-8979. Dostupné z: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1921338>
- [66] BRUGGEMAN, Peter a Christophe LEYS. Non-thermal plasmas in and in contact with liquids. *Journal of Physics D: Applied Physics*[online]. 2009, 42(5) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1088/0022-3727/42/5/053001. ISSN 0022-3727. Dostupné z: <http://stacks.iop.org/0022-3727/42/i=5/a=053001?key=crossref.8fa1b687ac83d548a8f846742c94f2e7>
- [67] KIM, Kil-Seong, Sang Kyu KAM a Young Sun MOK. Elucidation of the degradation pathways of sulfonamide antibiotics in a dielectric barrier discharge plasma system. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2015, 271, 31-42 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1016/j.cej.2015.02.073. ISSN 13858947. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138589471500282X>
- [68] KEALEY, D. a P. J. HAINES. *Analytical chemistry*. Oxford: BIOS, 2002. Instant notes series. ISBN 18-599-6189-4.
- [69] FIFIELD, F. W a D. KEALEY. *Principles and practice of analytical chemistry*. Malden, MA: Blackwell Science, c2000. ISBN 06-320-5384-4.
- [70] DRBAL, Karel a Martin KŘÍŽEK. *Analytická chemie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 1999. ISBN 80-704-0352-7.
- [71] CHRISTIAN, Gary D, Purnendu K DASGUPTA a Kevin SCHUG. *Analytical chemistry*. 7th ed. Hoboken: Wiley, c2014. ISBN 978-047-0887-578.
- [72] MOLDOVEANU, Serban C. a Victor DAVID. Parameters that Characterize HPLC Analysis. *Essentials in Modern HPLC Separations*. Elsevier, 2013, 2013, , 53-83. DOI: 10.1016/B978-0-12-385013-3.00002-1. ISBN 9780123850133. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123850133000021>
- [73] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [74] MOORE, Colin. Mass Spectrometry. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* [online]. Hoboken, NJ, USA, 2000, 2000-12-04 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1002/0471238961.1301191913151518.a01. ISBN 0471238961. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/0471238961.1301191913151518.a01>
- [75] BANERJEE, Shibdas a Shyamalava MAZUMDAR. Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte. *International Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2012, 2012, 1-40 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1155/2012/282574. ISSN 1687-8760. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/ijac/2012/282574/>

- [76] H. GROSS, Jürgen. Mass Spectrometry: A textbook. Second Edition. Germany - Heidelberg: Springer, 2006. ISBN 978-3-642-10709-2.
- [77] HOFFMANN, Edmond de a Vincent STROOBANT. Mass spectrometry: principles and applications. 3rd ed. Hoboken, NJ: J. Wiley, c2007. ISBN 978047003310-4.
- [78] KEBARLE, Paul a Udo H. VERKERK. A Brief Overview of the Mechanisms Involved in Electrospray Mass Spectrometry. Reactive Intermediates [online]. Weinheim, Germany, 2009, 2010-04-29, , 1-35 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1002/9783527628728.ch1. ISBN 9783527628728. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/9783527628728.ch1>
- [79] H. GROSS, Jürgen. Mass Spectrometry: A textbook. Third Edition. Germany - Heidelberg: Springer, 0017n. 1. ISBN 978-3-319-54397-0.
- [80] SHRIVASTAVA, Alankar a VipinB GUPTA. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. Chronicles of Young Scientists [online]. 2011, 2(1) [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.4103/2229-5186.79345. ISSN 2229-5186. Dostupné z: <http://www.cysonline.org/text.asp?2011/2/1/21/79345>
- [81] STROKA, Joerg, WENZL, Thomas, Johannes HAEDRICH, Alexander SCHAECHTELE a Piotr ROBOUCH, ed. Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food. EU Reference Laboratory, 2016. Dostupné také z: https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/loq_loq_guidance_document_food_contaminants_2016.pdf
- [82] Svahn, Ola & Björklund, Erland. (2015). Thermal stability assessment of antibiotics in moderate temperature and subcritical water using a pressurized dynamic flow-through system. International Journal of Innovation and Applied Studies. 11. ISSN 2028-9324.
- [83] REDDY, P. Manoj Kumar a Ch. SUBRAHMANYAM. Green Approach for Wastewater Treatment—Degradation and Mineralization of Aqueous Organic Pollutants by Discharge Plasma [online]. 2012, 51(34), 11097-11103 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1021/ie301122p. ISSN 0888-5885. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/ie301122p>
- [84] BALAKRISHNAN, Syam Krishna. Degradation of organic pollutants in water by non-thermal plasma based advanced oxidation processes: Degradace organických znečišťujících látek ve vodě nízkoteplotním plazmatem na bázi pokročilých oxidačních procesů. Vodňany: Faculty of Fisheries and Protection of Waters, University of South Bohemia in České Budějovice, 2017. ISBN 978-80-7514-058-6.
- [85] ANSLYN, Eric V. a Dennis A. DOUGHERTY. Modern physical organic chemistry. Sausalito: University Science Books, [2006]. ISBN 978-189-1389-313.
- [86] Pseudo-first Order Kinetics – Determination of a rate law. 2012. Dostupné také z: http://sitesmedia.s3.amazonaws.com/chem/files/2012/08/Pseudo_first_order_Primer.pdf
- [87] LESTER, Y., D. AVISAR a H. MAMANE. Photodegradation of the antibiotic sulphamethoxazole in water with UV/H₂O₂ advanced oxidation process. Environmental Technology [online]. 2010, 31(2), 175-183 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1080/09593330903414238. ISSN 0959-3330. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593330903414238>

- [88] NIU, Junfeng, Lilan ZHANG, Yang LI, Jinbo ZHAO, Sidan LV a Keqing XIAO. Effects of environmental factors on sulfamethoxazole photodegradation under simulated sunlight irradiation: Kinetics and mechanism. *Journal of Environmental Sciences* [online]. 2013, 25(6), 1098-1106 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1016/S1001-0742(12)60167-3. ISSN 10010742. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1001074212601673>
- [89] ZHOU, Li, Oscar González ALVAREZ, Carmen Sans MAZON, Ling CHEN, Huiping DENG a Minghao SUI. The roles of conjugations of graphene and Ag in Ag₃PO₄-based photocatalysts for degradation of sulfamethoxazole [online]. 2016, 6(15), 5972-5981 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1039/C6CY00192K. ISSN 2044-4753. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6CY00192K>
- [90] IOANNIDOU, Evangelia, Zacharias FRONTISTIS, Maria ANTONOPOULOU, Danae VENIERI, Ioannis KONSTANTINOU, Dimitris I. KONDARIDES a Dionissios MANTZAVINOS. Solar photocatalytic degradation of sulfamethoxazole over tungsten – Modified TiO₂. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2017, 318, 143-152 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1016/j.cej.2016.06.012. ISSN 13858947. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894716308191>
- [91] HU, Lanhua, Phillip M. FLANDERS, Penney L. MILLER a Timothy J. STRATHMANN. Oxidation of sulfamethoxazole and related antimicrobial agents by TiO₂ photocatalysis. *Water Research* [online]. 2007, 41(12), 2612-2626 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1016/j.watres.2007.02.026. ISSN 00431354. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135407001303>
- [92] KIM, Kil-Seong, Churl-Shin YANG a Y.S. MOK. Degradation of veterinary antibiotics by dielectric barrier discharge plasma. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2013, 219, 19-27 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1016/j.cej.2012.12.079. ISSN 13858947. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138589471300017X>
- [93] Degradation of Common Veterinary Antibiotics Using Nonthermal Plasma-Based Process. *International Conference on Chemical, Biological, and Environmental Sciences (ICCBES'14)* May 12-13, 2014 Kuala Lumpur (Malaysia) [online]. 2014, 2014-05-12, , - [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.17758/IAAST.A0514019. ISBN 9789382242925. Dostupné z: <http://iaast.org/siteadmin/upload/7628A0514019.pdf>
- [94] LIU, Xiaowei, Temesgen GAROMA, Zhonglin CHEN, Lili WANG a Youxian WU. SMX degradation by ozonation and UV radiation: A kinetic study. *Chemosphere* [online]. 2012, 87(10), 1134-1140 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.02.007. ISSN 00456535. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653512001841>
- [95] DU, Juanshan, Wanqian GUO, Huazhe WANG, Renli YIN, Heshan ZHENG, Xiaochi FENG, Di CHE a Nanqi REN. Hydroxyl radical dominated degradation of aquatic sulfamethoxazole by Fe⁰/bisulfite/O₂: Kinetics, mechanisms, and pathways. *Water Research* [online]. 2018, 138, 323-332 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1016/j.watres.2017.12.046. ISSN 00431354. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135417310412>

- [96] WANG, Jian, Yabing SUN, Jingwei FENG, Lu XIN a Jianzhong MA. Degradation of triclocarban in water by dielectric barrier discharge plasma combined with TiO₂/activated carbon fibers: Effect of operating parameters and byproducts identification. Chemical Engineering Journal [online]. 2016, 300, 36-46 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1016/j.cej.2016.04.041. ISSN 13858947. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894716304806>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AOP	pokročilé oxidační procesy
LC	kapalinová chromatografie
ESI	elektrosprej
MS	hmotnostní spektrometrie
LC-ESI-MS	spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií za ionizace elektrosprejem
UV	ultrafialové záření
ATC	anatomicko-terapeuticko-chemická klasifikace
ČR	Česká republika
PABA	kyselina para aminobenzoová
SMX	sulfamethoxazol
TMP	trimethoprim
TMP-SMX	sulfamethoxazol s trimethoprimem (Kotrimoxazol)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
CAS	registrační číslo
NTP	nízkoteplotní plazma
AC	střídavé napětí
DC	stejnoseměrné napětí
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
NP	system normálních fází
RP	system obrácených fází
UV-VIS	ultrafialovo-viditelná spektroskopie
HPLC-MS	vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí
EI	elektronová ionizace

CI	chemická ionizace
ESI	ionizace elektrosprejem
APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
APPI	fotoionizace za atmosférického tlaku
MALDI	desorpce a ionizace laserem za účasti matrice
E (ESA)	elektrický sektor
B	magnetický sektor
Q	kvadrupol
IT	iontová past
TOF	průletový separátor
OT	orbitrap
EM	elektronový násobič
CDEM	elektronový násobič s kontinuální dynodou
LOQ	limit kvantifikace
LOD	limit detekce
AGP	fosforečnan stříbrný
AGP-G	fosforečnan stříbrný-grafen
AAGP-G	stříbro-fosforečnan stříbrný-grafen
W-P25(T)	wolfram-částice TiO ₂ typu Degussa P25
DBD	dielektrický bariérový výboj